

MORPHOLOGIE VON HORNZELLEN
DER MENSCHLICHEN EPIDERMIS
BEI EKZEM,
EXPERIMENTELLER DERMATITIS
UND BEHANDLUNG MIT
CORTICOSTEROIDEN

Erhard Hölzle

1975

Aus der Dermatologischen Klinik der Universität München
Direktor: Prof. Dr. O. Braun-Falco

MORPHOLOGIE VON HORNZELLEN DER MENSCHLICHEN
EPIDERMIS BEI EKZEM, EXPERIMENTELLER DERMATITIS
UND BEHANDLUNG MIT CORTICOSTEROIDEN.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfasst und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Erhard Hölzle

aus

Landshut

1975

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität
München

Berichterstatter: Priv. Doz. Dr. G. Plewig
Mitberichterstatter: Prof. Dr. O. Braun-Falco
Dekan: Prof. Dr. W. Spann
Tag der mündlichen Prüfung: 1. Juli 1975



INHALT

	Seite
A.Zusammenfassung:	5
B.Einleitung:	7
Entwicklung und Stand der morphologischen Hornzell- forschung; Zielsetzung der Arbeit.	
C.Methoden und Material:	10
I.Anfertigung der zytologischen Präparate	10
1.Zellgewinnung	10
2.Zellfärbung und weitere Aufarbeitung der Prä- parate	12
II.Definition und Bestimmung der morphologischen Parameter	15
1.Zellzählung	15
2.Zellumriß, Trabekelstruktur, Kernstruktur	15
3.Zellfläche	24
III.Statistische Auswertung	25
D.Verlauf der Studien und Versuchsergebnisse	26
I.Untersuchungen an Ekzempatienten	26
1.Beobachtungsgut, Durchführung	26
2.Ergebnisse	28
a) Klinischer Verlauf	28
b) Morphologische Parameter	30
c) Zusammenfassung	36
II.Experimentelle Dermatitis	38
1.Beobachtungsgut, Durchführung	38
2.Ergebnisse	41
a) Reizung durch Hornschichtabriß	41
aa) Klinischer Verlauf	41
bb) Morphologische Parameter	46
cc) Zeitliche Beziehung des klinischen und zellmorphologischen Verlaufs nach HSA	57

	Seite
b) Reizung durch Vitamin-A-Säure-Applikation	58
aa) Klinischer Verlauf	58
bb) Morphologische Parameter	60
E. Diskussion der Ergebnisse	66
I. Physiologische und pathologische Hornzellmorphologie	66
1. Die morphologischen Kriterien und ihre Entstehungsbedingungen	66
2. Vergleich der Hornzellmorphologie bei Ekzem und experimenteller Dermatitis	74
II. Betrachtung der epidermalen Regenerationsdynamik	75
1. Detergens-Technik und physiologischer Hornzellverlust.	75
2. Epidermale Regeneration bei Hornschichtabriss	78
3. Epidermopoesis bei Vitamin-A-Säure-Reizung	82
4. Einfluss der Epidermopoesis auf die Zellfläche	84
III. Wirkung der lokalen Corticosteroidapplikation	86
1. Beeinflussung der Hornzellmorphologie	86
2. Wirkungsvergleich der verwendeten Steroide	90
3. Unerwünschte Wirkungen der Corticosteroide	91
a) Steroidakne	91
b) Pigmentverlust	92
F. Literaturverzeichnis	95

A. ZUSAMMENFASSUNG

Die Morphologie von Hornzellen der obersten Schicht des Stratum corneum wird nach Zellfläche, Zellumriß, Kernstrukturen und Trabekelverhalten beschrieben. Die Zellen werden mit Hilfe einer Detergens-Technik von der Hautoberfläche gewonnen, die Anzahl der abgewaschenen Hornzellen pro cm^2 Hautfläche wird dabei bestimmt. Die erwähnten morphologischen Parameter werden entweder direkt als Messwerte oder anhand prozentualer Häufigkeiten quantitativ erfaßt. Bei Ekzempatienten und in experimentellen Dermatitis-Modellen, wie VAS-Reizung (Vitamin-A-Säure) oder HSA (Hornschichtabriß, Stripping) werden dem klinischen Verlauf die morphologischen Veränderungen zugeordnet. Während der Behandlung der entzündlich veränderten Epidermis mit Corticosteroiden wird das Verhalten der klinischen und morphologischen Parameter verfolgt und mit dem spontanen Abklingen der Erscheinungen verglichen.

Hornzellen von gesunder Rückenhaut sind $970\mu^2$ ($\pm 80\mu^2$) groß und zu einem Anteil von über 50% regelmäßig, polygonal konturiert. Pentagonale Formen überwiegen gegenüber den hexagonalen Umrissen im Verhältnis 3:2. Etwa 25% der Zellen enthalten Kernschatten, sonstige Kernreste fehlen. Die Trabekelstrukturen sind zu über 90% deutlich ausgeprägt und geordnet, oft parallel zum Umriß. Als wesentlicher Faktor, der die Hornzell-Morphologie beeinflusst, wird die säulenförmige Architektur des Stratum corneum (Stacking-Prinzip) herausgestellt. Die Kolumnärstruktur der Hornschicht bedingt die geordnete Zellmorphologie.

Hornzellen von ekzematös veränderter Haut sind gegenüber von Kontrollzellen klinisch gesunder Haut um 15% kleiner. Mit der Detergens-Technik lassen sich doppelt so viele Zellen gewinnen als von normaler Epidermis. Der Prozentsatz der Zellen

mit unregelmäßigem Umriß ist auf 70% erhöht. Etwa 50% der Zellen enthalten solide Kerne oder Kernreste. Der Anteil der Hornzellen mit Kernschatten nimmt nicht zu. Über 65% verlieren ihre geordnete Trabekelstruktur. Durch die Behandlung mit Corticosteroiden werden alle morphologischen Parameter parallel zum klinischen Bild normalisiert.

Durch VAS-Applikation werden nach 10-15 Tagen morphologische Zellveränderungen hervorgerufen, die qualitativ den Verhältnissen an ekzematös veränderter Haut entsprechen, sie aber quantitativ übertreffen. Sie sind abhängig von Anwendungsdauer, Dosierung und individueller Reaktion des Probanden. Das klinische Bild zeigt eine erythematosquamöse Dermatitis.

Schlagartig treten 3-4 Tage nach HSA Veränderungen der Zellmorphologie auf, wie sie bei Ekzem und VAS-Reizung ebenfalls gefunden werden. Das klinische Bild zeigt Erythem und Schuppenkrusten. Bemerkenswert ist die Veränderung der Zellfläche. Nach einer initialen Phase der Flächenzunahme entsteht ein zweigipfelig, wellenförmiger Verlauf. Dieses Verhalten wird ausführlich diskutiert und auf die hochgradige Synchronisation des durch HSA ausgelösten Proliferationsschubes zurückgeführt.

Bei der Wirkungsprüfung der Corticosteroide im vorliegenden Versuchsmodell läßt sich eine signifikant schnellere Normalisierung der beobachteten klinischen und zellmorphologischen Parameter nachweisen. Betamethason-Dipropionat zeigt eine stärkere Wirkung als Betamethason-Valerat. Eine spezifische Beeinflussung der Zellgestalt durch Steroide kann nicht gefunden werden. Durch HSA oder VAS-Applikation gereizte Hornzellen werden ebenso wie Zellen von unveränderter Haut infolge der Steroid-Behandlung deutlich verkleinert. Das gegensätzliche Verhalten der Zellfläche bei Ekzem, und der Zusammenhang mit der Regenerationsdynamik der Epidermis werden erläutert.

B.EINLEITUNG

Das Erkennen feiner Strukturen an Hornzellen der obersten Schichten des menschlichen Stratum corneum ist nur möglich, wenn einzelne Schuppen oder einschichtige Zellagen in der Aufsicht betrachtet werden. Das übliche Verfahren des histologischen Schnittes liefert, wegen der stark abgeplatteten Form der Corneozyten, nur wenig Information über die Morphologie der einzelnen Zelle. Es können lediglich die Dicke der Hornschicht, das Persistieren von Zellkernen im Stratum corneum und bei Anwendung geeigneter Techniken [13,16,17] die Architektur der Zellagen ("stacking") beurteilt werden.

1967 führten Goldschmidt und Kligman [31] die "adhesive slide technique", eine Weiterentwicklung der 1939 von J.Wolf [80] angegebenen Adhäsionsmethode, ein. Damit konnten die oberflächlichsten Hornzellschichten in ihrer natürlichen, topographischen Anordnung gewonnen und in der Aufsicht betrachtet werden.

1965 wurde von Williamson und Kligman [78] ,ursprünglich zur Untersuchung der kutanen Mikroflora, die "detergent scrub Method" entwickelt. Diese Technik wurde von McGinley et al. modifiziert und zur qualitativen und quantitativen Hornzell-Analyse benützt. Es können damit, in einfacher Weise, von jeder beliebigen Körperregion Corneozyten in Form einer Zellsuspension gewonnen werden. In der vorliegenden Arbeit wurde ausschließlich diese Detergens-Technik verwandt.

Mit Hilfe dieser zytologischen Methoden gelang es, die Morphologie und Pathomorphologie der Hornzellen genauer zu beurteilen. Von verschiedenen Autoren wurden Form und Grösse der Zelle, Strukturen wie Trabekel, Granula, Kerne oder Kernreste beschrieben. Auch die Anzahl der gewonnenen Zellen, bezogen auf die Hautoberfläche, wurde untersucht. Tabelle 1 gibt eine chronologische Zusammenfassung dieser Untersuchungen.

Tabelle 1:

Untersuchungen anderer Autoren über die Morphologie von Hornzellen.

	untersuchte morpho- log.Kriterien	Zushng.mit Dermatosen
1940 Wolf [79]	Keratingranula, Kernvakuolen	-
1956 Hunter et al. [35]	Zahl, Fläche	-
1961 Hanusova [33]	Lipoidgranula	ja
1967 Goldschmidt u. Kligman [31]	Kernstrukturen, Melanin- granula, Oberflächen- strukturen	ja
1969 McGinley et al [30]	Zahl, Kernstrukturen	ja
1970 Plewig u. Marples [58]	Fläche	-
1970 Plewig [51]	Fläche	-
1970 Plewig u. Kligman [57]	Fläche	ja
1970 Plewig [53]	Fläche, Umrisse, Trabekel, Kernstrukt.	-
1971 Marks u. Dawber [41]	Zellmembran, Oberflächen- strukturen	ja
1972 Goldschmidt u. Thew [32]	Kernstrukt.u. Granula	ja

Wie daraus hervorgeht, beschränkten sich die meisten Autoren auf die Beschreibung weniger oder einzelner morphologischer Kriterien. Auch wurde der Zusammenhang zwischen Morphologie der Hornzellen und klinischer Hauterscheinung bei entzündlichen Dermatosen nur wenig untersucht.

In der vorliegenden Arbeit wurden in mehreren Versuchsreihen alle morphologischen Parameter (Zellfläche, Zellzahl pro Hautoberfläche, Zellumriss, Trabekelstruktur, Kernstruktur) quantitativ erfasst, in ihrem zeitlichen Verlauf verfolgt und den klinischen Hauterscheinungen zugeordnet. Ausserdem

wurde der Einfluss der lokalen Behandlung entzündlicher Hautveränderungen mit Glucocorticoiden auf die Morphologie der Hornzellen geprüft. Es sollte dabei eine Aussage über die Wirksamkeit und eventuell den Wirkungsmechanismus von Corticosteroiden ermöglicht werden. Dies erschien umso mehr gerechtfertigt, als die Behandlung von Dermatitisen mit corticosteroidhaltigen Externa in den letzten Jahren einen stürmischen Aufschwung genommen hat. Seit der 1952 erstmals von Goldman angewandten externen Hydrocortison-Therapie wurden nach 1960 ausschliesslich topisch wirksame, einfach oder doppelt fluoriierte Steroide entwickelt [36,64,74] .

Um die genannten Fragen zu beantworten, wurden Hornzellen von Ekzempatienten, die mit Steroiden behandelt wurden, über die gesamte Dauer der Erkrankung im Abstand von wenigen Tagen untersucht. Zur Kontrolle wurden auch von symmetrischen, klinisch gesunden Hautarealen Zellen gewonnen. Ein exakter Vergleich der morphologischen Parameter entzündlich veränderter Hornzellen, einmal bei Behandlung mit Corticosteroiden und zum andern bei spontanem Abklingen der Hautveränderungen, wurde an Hand zweier, definierter, experimenteller Entzündungsmodelle durchgeführt. Zu diesem Zweck wurde bei freiwilligen Probanden durch sukzessiven Hornschichtabriss (HSA) und durch intensive Vitamin-A-Säure-Behandlung (VAS-Behandlung) eine Reizung unter dem Bild einer erythemato-squamösen Dermatitis erzeugt.

Der Verlauf der morphologischen Parameter und des klinischen Bildes wurde in mehrtägigen Abständen über etwa 5 Wochen verfolgt. Die Veränderungen mit und ohne Corticosteroidbehandlung wurden verglichen und damit die Wirksamkeit der Steroide überprüft.

C.METHODEN UND MATERIAL

I. Anfertigung der zytologischen Präparate

1. Zellgewinnung:

Die Hornzellen wurden mit Hilfe der von Williamson und Kligman [78] 1965 beschriebenen, etwas modifizierten, detergent scrub method gewonnen. Es wurde ein starkwandiger Glaszylinder mit $3,8 \text{ cm}^2$ Querschnittsinnenfläche auf die zu untersuchende Hautstelle unter mässigem Druck aufgesetzt.



Abbildung 1:

Gewinnung der Hornzellsuspension mit Hilfe der Detergens-Technik.

Nach Zugabe von 0,5 ml einer 0,05%igen gepufferten Lösung von Triton-X 100 wurde mit dem stumpf abgeplatteten Ende eines Teflonstabes 40 sec an der Hautoberfläche gerührt (siehe Abb.1). Die so entstandene Hornzellsuspension konnte mit einer Pasteur-Pipette aufgenommen werden. Triton-X 100 ist ein sehr starkes, nicht ionisiertes Detergens, seiner chemischen Struktur nach ein Alkylphenoxypolyaethylen-Äther. Als Puffer wurde 0,01 molarer Phosphatpuffer nach Nairn mit pH 7,1 verwendet. Er wurde wie folgt angesetzt:

0,5 g NaCl
1,07 g Na_2HPO_4 (ohne H_2O)
0,39 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$
ad 1000 ml Aqua dest.

Da die Anzahl der abgewaschenen Hornzellen pro cm^2 Hautoberfläche auch beurteilt wurde (siehe Seite 15), diese aber von der Dauer des Waschvorgangs abhängt, musste die Waschzeit konstant gehalten werden, um hinsichtlich der Zellzahl vergleichbare Präparate zu gewinnen. In Vorversuchen wurde der Zusammenhang zwischen Zellzahl und Dauer des Abwaschvorgangs an klinisch gesunder Haut untersucht. Wie die Abbildung 2 zeigt, steigen die Zellzahlen von 5 bis 15 sec steil an und erreichen dann ein Plateau, von dem aus die Werte nach längeren Waschzeiten als 50 sec wieder allmählich zunehmen. Zwischen 30 und 65 sec ist die Streubreite relativ gering. Um einerseits grosse statistische Fehler, wie sie im Kurvenanstieg und bei kurzen Zeiten (bis 30 sec) auftreten können, zu vermeiden, und andererseits keine zu langen Waschzeiten in Kauf nehmen zu müssen, wurde für alle Proben eine Waschzeit von 40 sec gewählt.

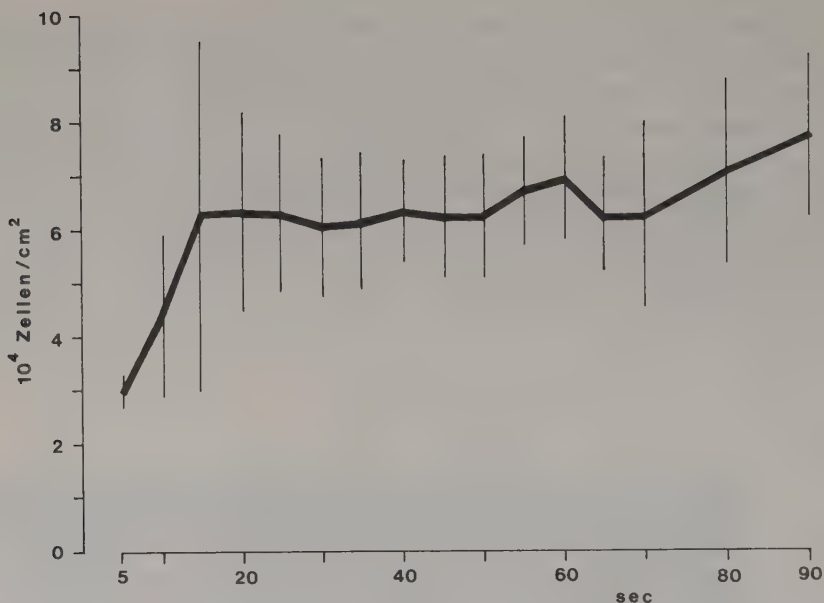


Abbildung 2:

Zusammenhang zwischen Dauer des Abwaschvorganges und Anzahl der gewonnenen Zellen pro cm² Hautoberfläche . N = 6.

2. Zellfärbung und weitere Aufarbeitung:

An die Zellfärbung wurden folgende Forderungen gestellt:

- Das Verfahren sollte schnell und einfach zu handhaben sein, um bei einer grossen Anzahl von Präparaten ein rationelles Arbeiten zu ermöglichen.
- Die Zellen mussten sich zuverlässig, rasch und gleichmässig anfärben; Einzelheiten in der Struktur sollten deutlich hervortreten.
- Nach dem Trocknen der Präparate sollten sich die Zellen kontrastreich vom ungefärbten Hintergrund abheben, was insbesondere für das Erstellen der Mikrofotographien von Bedeutung war.

- Alle weiteren Arbeitsgänge in der Aufbereitung der Präparate durften die Qualität der Färbung nicht beeinträchtigen.

Nach der Methode von McGinley et al. [30] werden einige Tropfen einer Mischung aus gleichen Teilen Kristallviolett und Karbolfuchsin zur Zellsuspension gegeben. Das Verfahren mißlang jedoch in einer Reihe von Fällen. Aus ungeklärter Ursache entstanden Farbzusammenklumpungen, die das Präparat unbrauchbar machten. Ausserdem verlor die Färbung bei starker Belichtung des Präparates im Projektionsmikroskop (siehe Seite 24) schnell an Intensität.

Weitere Färbungen, wie modifiziert nach Gram, Giemsa, Pappenheim, Wright, Papanicolaou wurden von Goldschmidt und Kligman [31] bei der "adhesive slide technique" benutzt. Sie erwiesen sich jedoch für das hier angewandte Verfahren als zu aufwendig. Auch das Färbeergebnis war dem einfacheren Methoden unterlegen. In einer Versuchsreihe wurden einige Farblösungen und deren Mischungen analog dem Verfahren von McGinley erprobt. Die Ergebnisse dieser Versuche sind in Tabelle 2 zusammengefasst.

Methylenblau und Rhodamin B wurden den gestellten Anforderungen am besten gerecht. Eine Mischung aus beiden im Verhältnis 3 : 1 erwies sich als optimal. Rhodamin B Lösung wurde aus Trockensubstanz mit 40%igem Äthylalkohol angesetzt. Pro 1 ml Alkohol wurden 100 mg Rhodamin B zugegeben. Da der Farbstoff sich in solch hoher Konzentration nur schlecht löste, wurde so vorgegangen, dass zum Beispiel 2,5 g Rhodamin B Trockensubstanz in 25 ml 40%igem Alkohol und 75 ml Methylenblaulösung aufgerührt wurden. Ungelöste Farbteilchen wurden durch Filtrieren beseitigt (Selecta Faltenfilter Nr. 595 1/2, Ø 15 cm). Diese Mischung wurde im Verhältnis 1: 1 zur Zellsuspension gegeben. Nach kurzem Aufschütteln wurden einige Tropfen auf einen Objektträger gebracht und mit einem Deckplättchen abgedeckt. Nach 24 - 48 Std Lufttrocknung konnten die Präparate ausgewertet werden.

Tabelle 2: Färbeergebnis mit verschiedenen Farblösungen und Farbstoffmischungen

Farblösungen	Farb- intensität	Kontrast	Sauberkeit d.Präp.
Fuchsin	+	++	+
Kongorot	++	+	+
Hämalaun	(+)		
Amidoschwarz	++	++	+
Kristallviolett	+++	++	+
Methylgrün	(+)		
Rhodamin B	+++	(+)	++
Nilblausulfat	++	(+)	+
Alcianblau	(+)		
Methylenblau	++	++	++
Amidoschwarz u. Kristallviolett			0
Methylgrün u. Kongorot			0
Nilblausulfat u. Kongorot	++	(+)	+
Amidoschwarz u. Kongorot			0
Amidoschwarz u. Rhodamin B			0
Amidoschwarz u. Fuchsin			0
Methylenblau u. Rhodamin B	+++	+++	++

Zeichenerklärung:

Farbintensität: (+) sehr schwach; + schwach; ++ stark;
+++ sehr stark;

Kontrast: (+) gering; + mässig; ++ gut; +++ sehr gut;

Sauberkeit d.Präp: 0 unbrauchbar durch Klumpung; + geringe
Verschmutzung; ++ sauber.

II. Definition und Bestimmung der morphologischen Parameter.

1. Zellzählung:

Zur Bestimmung der Anzahl der abgewaschenen Hornzellen wurde eine Probe der gefärbten Zellsuspension in einem Haemocytozometer nach Fuchs-Rosenthal analog dem Verfahren der Leukozytenzählung ausgewertet. Da konstant 0,5 ml Triton-X 100 zur Gewinnung der Zellen verwendet, und die Farblösung in definierter Menge zugegeben wurde, war es leicht möglich, an Hand der Fläche des Glaszylinders von $3,8 \text{ cm}^2$, mit Hilfe eines Umrechnungsfaktors, auf die Anzahl der abgewaschenen Hornzellen pro 1 cm^2 Hautoberfläche zu schliessen.

Diese Methode zeichnet sich nach den Ergebnissen von McGinley et al. [30] durch eine gute Reproduzierbarkeit aus. Die genannten Autoren fanden bei vergleichenden Untersuchungen symmetrischer Hautstellen an der Stirn einen Korrelationskoeffizienten von $r = 0,934$.

2. Zellumriss, Trabekelstruktur, Kernstruktur:

Um diese rein qualitativen Merkmale der Zellen quantitativ fassbar zu machen, mussten zunächst Kriterien geschaffen werden, nach denen die Zellen verschiedenen Klassen zugeordnet werden konnten. Der Zellumriss wurde, wie auch schon 1970 von Flewig [53] beschrieben, in pentagonal, hexagonal oder unregelmässig klassifiziert. Die Trabekelstruktur der Zellen wurde eingeordnet in "deutlich und regelmässig", "ungeordnet oder schwach" ausgebildet und "fehlend". Hier war eine eindeutige Zuordnung oft schwierig, da die Übergänge fließend waren und jede Einteilung eine willkürliche Zäsur darstellte. Bei der Beurteilung der Kernstrukturen parakeratotischer Zellen wurde unterschieden zwischen "gut erhaltenen, blau gefärbten Kernen", "rot gefärbten Kernresten" und "Kernschatten".

Tabelle 3 und die Abbildung 3 - 9 verdeutlichen diese Einteilung nach morphologischen Kriterien. Die im üblichen, hystologischen Schnitt sichtbaren parakeratotischen Zellen entsprechen in der vorliegenden Versuchsanordnung den Zellen mit soliden, rot oder blau gefärbten Kernen. Die Kerntrümmer und Kernschatten sind nur in der Aufsicht erkennbar, und entgehen der Beobachtung im paraffin-fixierten Schnitt.

Die Mikrofotographien wurden mit Ölimmersionslinsen (100-fach bzw. 40-fach) angefertigt.^(x)

Tabelle 3:

Einteilungsprinzipien der Zellmorphologie, als Beispiele sind die entsprechenden Abbildungen angeführt

Zell- umriss	pentagonal Abb.3	hexagonal Abb.4	unregelmässig Abb.5,6,7,8,9	
Trabekel- struktur	regelmässig u.deutlich Abb.3,4	ungeordnet od.schwach Abb.5,6,7,9	fehlend Abb.8,36	
Kern- struktur	keine Abb.4,5	Kern- schatten Abb. 3	Kernreste rot Abb.8,9	solide Kerne blau Abb. 7

^(x) Den Herren Dr. Hofmann und Dr. Gillissen von der Byk-Essex, Pharmazeutische Gesellschaft mbH. München, sei herzlich für die tatkräftige Unterstützung für die Farbabbildungen gedankt.

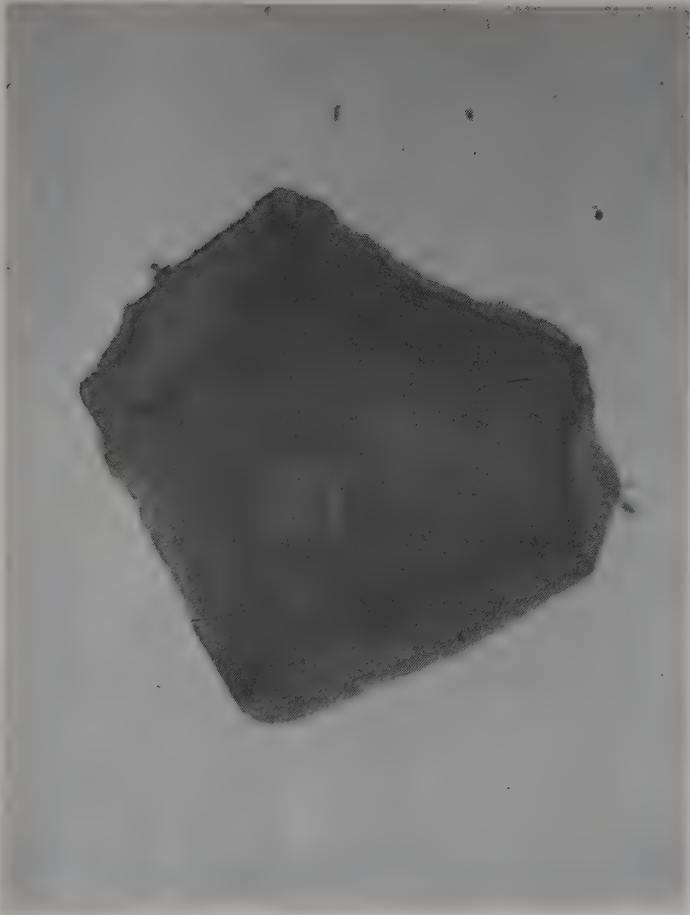


Abbildung 3:

Pentagonale Hornzelle mit deutlichen und regelmässigen Trabekeln parallel zum Umriß und mit Kernschatten; von klinisch gesunder Rückenhaul; Vergr. 2400:1

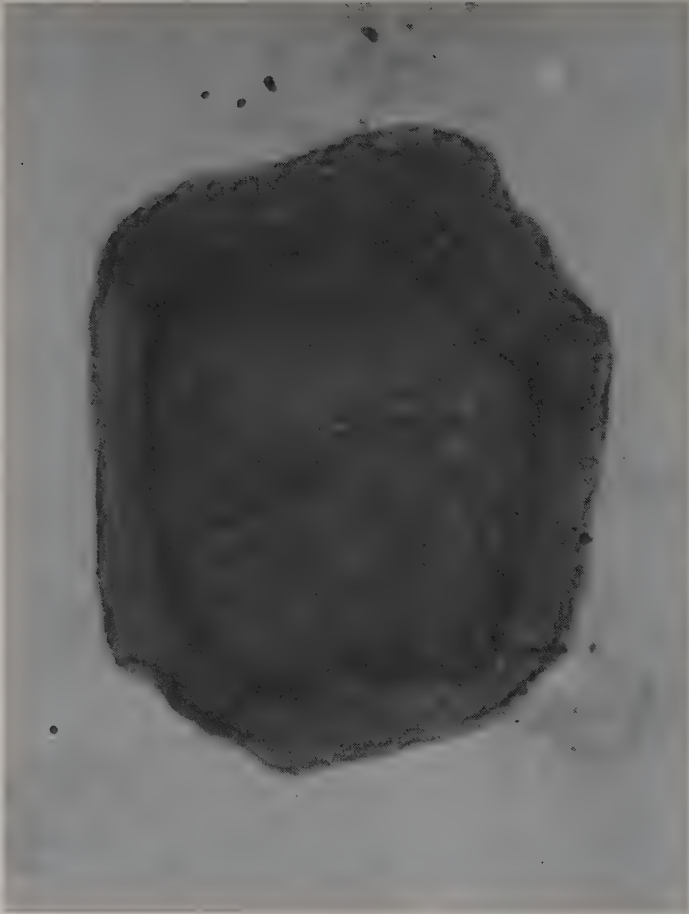


Abbildung 4:

Hexagonale Hornzelle mit deutlichen und regelmäßigen Trabekeln parallel zum Umriß; keine Kernreste; Rücken, 4-5 Wochen nach HSA und dreiwöchiger Applikation von Glucocorticoiden; Vergr. 2400:1

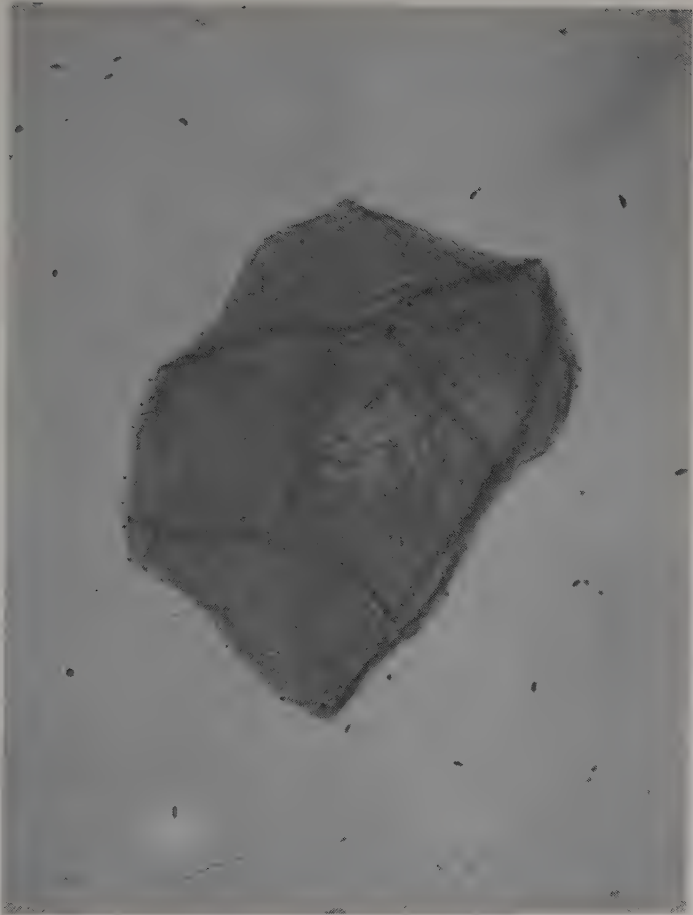


Abbildung 5:

Unregelmässig konturierte Hornzelle mit deutlichen, aber ungeordneten Trabekeln; Rücken, 4-5 Wochen nach HSA und dreiwöchiger Applikation von Glucocorticosteroiden; Vergr. 2400:1

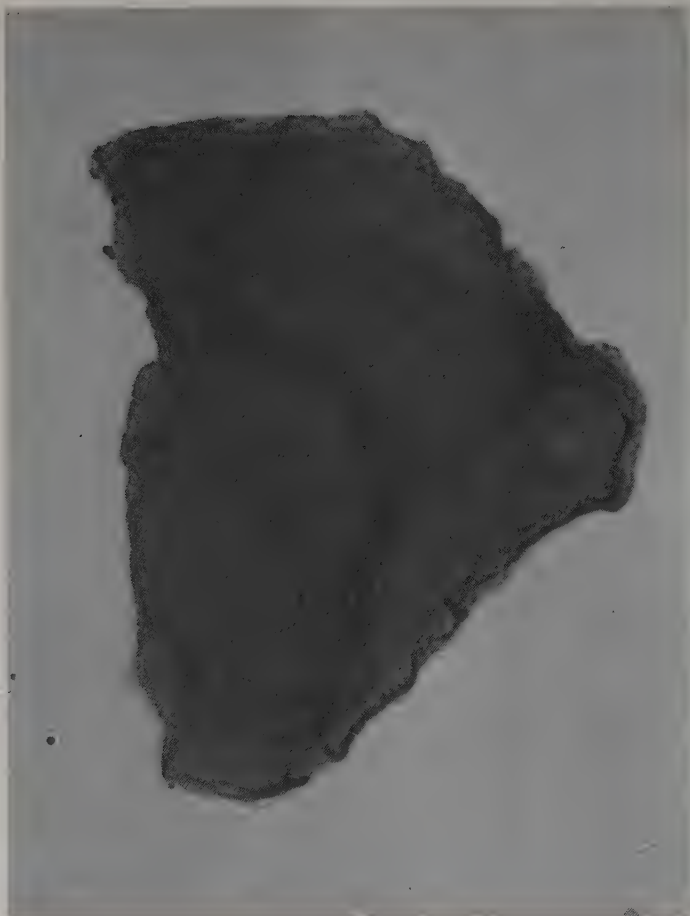


Abbildung 6:

Unregelmässig umrissene Hornzelle mit deutlicher, aber ungeordneter Trabekelstruktur; keine Kernreste; Rücken, 4-5 Wochen nach HSA und dreiwöchiger Applikation von Glucocorticoiden; Vergr. 2400 : 1



Abbildung 7:

Unregelmäßig umrissene Hornzelle mit schwacher Trabekelstruktur; solider, blau angafärbter Zellkern; Rücken, nach 14-tägiger Applikation von Vitamin-A-Säure; Vergr. 2400:1

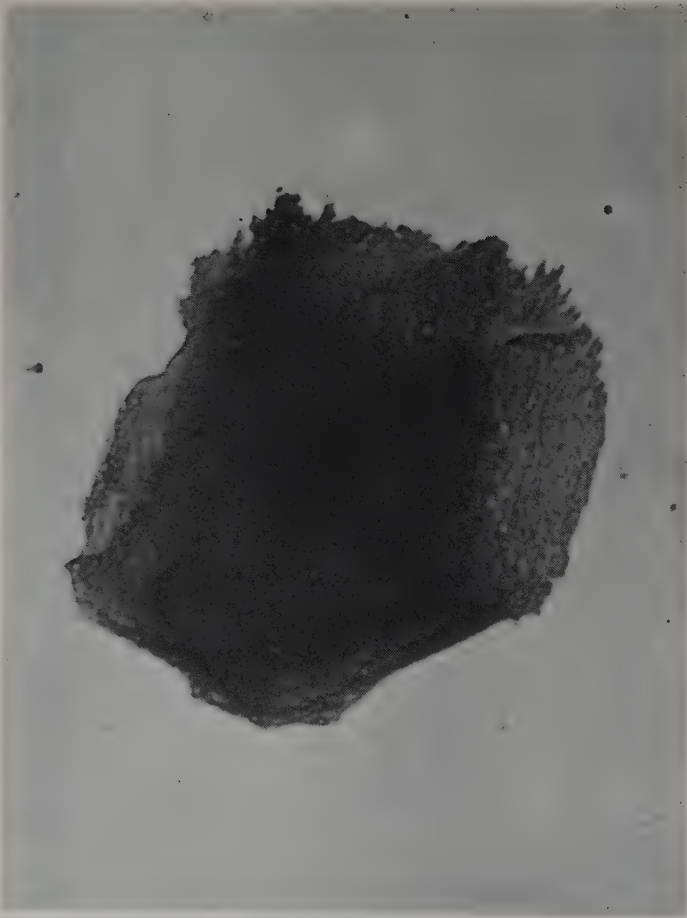


Abbildung 8:

Unregelmässig umrissene, teilweise ausgefrante Hornzelle mit fehlender Trabekelstruktur; Kernrest rot angefärbt; zahlreiche, vakuolige, wahrscheinlich Lipoid enthaltende Granula; Rücken, 4 Tage nach HSA; Vergr. 2400 : 1

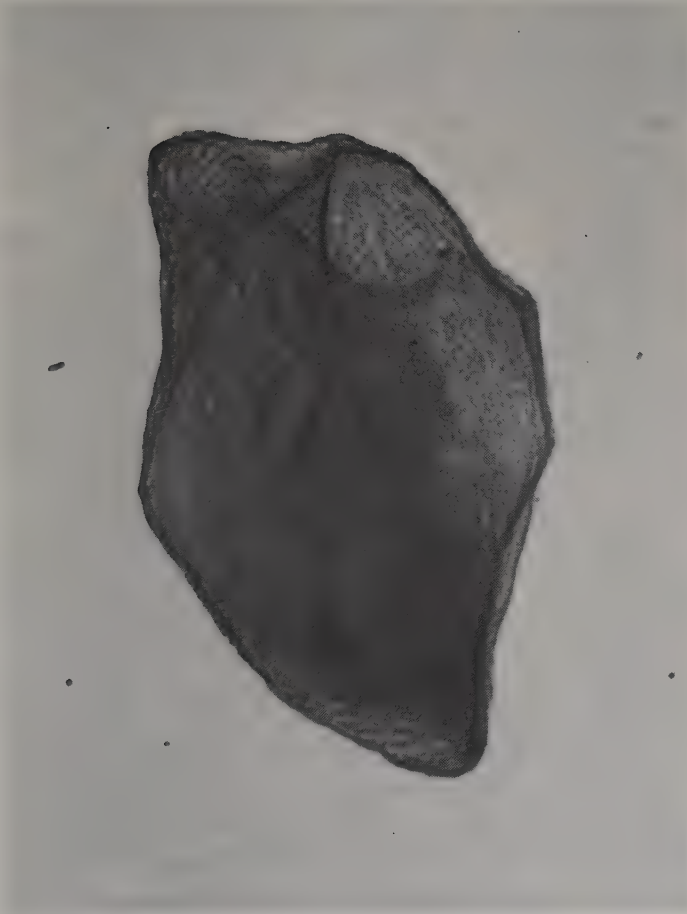


Abbildung 9:

Unregelmässig konturierte Hornzelle mit deutlicher, aber ungeordneter Trabekelstruktur; rot gefärbte, schollige Kerntrümmer; Rücken, 5 Tage nach HSA; Vergr. 2400 : 1

Von jedem Präparat wurden stichprobenartig 50 Zellen nach ihrer Morphologie beurteilt, und den verschiedenen Klassen zugeordnet. Es wurde also die prozentuale Häufigkeit eines jeden Merkmals ermittelt. Zur Arbeitserleichterung wurden die Merkmale, entsprechend den Einteilungsprinzipien, in einen Zahlencode verschlüsselt, und in vorbereitete, hektographierte Listen eingetragen. Diese Listen wurden dann statistisch weiter aufgearbeitet.

3. Zellfläche:

Die ersten systematischen Flächenbestimmungen an Hornzellen wurden 1970 von Plewig u. Marples [58] und Plewig [51,57,53] durchgeführt. Die genannten Autoren berechneten die Fläche zunächst aus grösstem und kleinstem Zelldiameter angenähert als Ellipse. In neuerer Zeit setzte sich jedoch ein anderes Verfahren (Plewig [48]) durch, das auch in der vorliegenden Arbeit angewandt wurde. Von den mikroskopischen Präparaten wurden die Zellen mit Hilfe eines Projektionsmikroskops auf einem Blatt Papier abgebildet (Projektionsgerät Prado-Universal Leitz, Wetzlar oder Forschungsmikroskop Universal mit Projektionszusatz bestehend aus monokularem Schrägtubus und Projektionszeichenspiegel Carl Zeiss, Oberkochen. Öl-immersionslinse 100-fach). Der Vergrößerungsstab wurde mit einem graduierten Objektträger geeicht (Mikrometer Leitz, Wetzlar 2 mm geteilt in 200 Teile). Er wurde so gewählt daß sich eine 2000-fache lineare Vergrößerung ergab.

Bei Verwendung des Projektionsokulars als Zusatzgerät zum Mikroskop musste besonders auf Verzerrungsfreiheit des Projektionsbildes geachtet werden. Durch geeignete Schrägstellung des Mikroskops konnte diese fehlerhafte Abbildung korrigiert werden. Der Umriss der Zellen wurde auf dem Papier nachgezeichnet, und die Fläche dieses Umrissbildes mit einem Planimeter in cm^2 ausgemessen. Über den bekannten Vergrößerungsstab konnte die wahre Zellfläche leicht in μ^2 errechnet werden.

Auf diese Weise wurden von jedem Präparat 50 zufällig ausgewählte Zellen vermessen und ein Mittelwert errechnet. Der Fehler der Planimetrie beträgt bei dieser Methode nach eigenen Untersuchungen etwa 2 % . Flewig [48] fand einen Fehler von unter 1 - 3 %.

III. Statistische Auswertung

In der in Abschnitt C II geschilderten Weise wurden etwa 1100 Präparate ausgewertet. Dabei wurden über eine Viertelmillion Einzeldaten erhoben. Ihre statistische Bearbeitung war nur mit Hilfe einer elektronischen Rechenanlage zu bewältigen. Mittelwerte, Standardabweichungen und Signifikanzniveau beim Students t- Test [65] wurden mit einem Programmrechner (Olivetti Programma 101) ermittelt.^(x)

Zur Beantwortung der Frage, inwieweit die Behandlung mit Corticosteroiden einen signifikanten Einfluss auf den Verlauf der experimentell untersuchten Zellparameter ausübt, wurden zwei verschiedene Verfahren angewandt. Kontinuierliche Messdaten, wie Zellzahl und Zellfläche wurden mit Hilfe der Rangsummen-Statistik nach Friedmann (zitiert nach [61]) geprüft. Daten, welche prozentualen Häufigkeiten entsprachen, wurden durch Aufstellung dreidimensionaler Kontingenztafeln statistisch bearbeitet. Ein Verfahren zur Klassifizierung solcher mehrdimensionaler Tafeln wurde 1970 von Victor [70,71] angegeben. Im vorliegenden Fall entsprechen Versuchspersonen, Zellmorphologie und Behandlungsart den verschiedenen Dimensionen. Durch schrittweise Klassifizierung an Hand spezieller Testverfahren liess sich bei einer vorgegebenen Irrtumswahrscheinlichkeit ein signifikanter

(x) Für die freundliche Beratung und Unterstützung bei der statistischen Auswertung sei Herrn Dr. Schäffer, Frl. Hoffmann, Frau Kleine und Frau Siegerstädter, Mitarbeiter am Institut für medizinische Datenverarbeitung, Statistik und Dokumentation an der TU München, recht herzlich gedankt.

Zusammenhang oder eine Unabhängigkeit der drei unterschiedlichen Faktoren bestimmen. Diese Berechnungen wurden an einer elektronischen Rechanlage durchgeführt (Inst. für medizinische Datenverarbeitung, Statistik und Dokumentation an der Technischen Universität München) .

D. VERLAUF DER STUDIEN UND VERSUCHSERGEBNISSE :

I. Untersuchungen an Ekzempatienten

1. Beobachtungsgut, Durchführung:

An 17 männlichen Patienten der Dermatologischen Poliklinik im Alter zwischen 34 und 74 Jahren wurden 18 ekzematöse Hautveränderungen untersucht. In der Mehrzahl handelte es sich dabei um kontaktallergische Dermatitis. Die einzel-

Tabelle 4:
Zusammenstellung der
Lokalisation nach
ihrer Häufigkeit

Regionen	Anzahl
U.-Schenkel	8
Hand (palm.)	4
U.-Arm u. Ellenbogen	3
Brust	2
Rücken	1
N = 18	

nen Lokalisationen und ihre Häufigkeit sind in Tabelle 4 zusammengestellt. Es wurden nur solche Patienten in die Studie mit einbezogen, deren Hautveränderungen akut und noch nicht mit Steroiden behandelt waren. Die Auswahl erfolgte, abgesehen von der eben erwähnten Einschränkung, zufällig. Vor Beginn der Behandlung wurde eine Probe von der ekzematös veränderten Epidermis, und wenn

möglich, von der entsprechenden kontralateralen, gesunden Hautstelle gewonnen. Die Proben von klinisch unveränderten Hautarealen dienten als Kontrolle, mit der alle anderen Präparate verglichen wurden. Alle Patienten wurden ausnahms-

los mit Betamethason-17-Valerat-Creme oder Salbe, einem monofluorierten Corticosteroid mit rein topischer Wirkung behandelt.^(x) Die Patienten trugen die Corticoid-Creme oder Salbe 2x täglich auf die erkrankten Hautstellen auf. Während der Behandlung, die bis zum Abklingen der Hauterscheinungen durchgeführt wurde, wurden alle 2 bis 5 Tage Hornzellen untersucht.

Von jedem Patienten, bzw. von jeder untersuchten Ekzem-manifestation, wurde für alle beobachteten Parameter ein zeitlicher Verlauf in Form einer Graphik dargestellt. Ein Beispiel für die Veränderungen der Trabekelstruktur zeigt Abbildung 10. Von diesen Kurven wurden je 3 charakteristische Werte entnommen. In der Regel vor der Behandlung, nach etwa einer Woche und bei Abschluss der Behandlung. Sie wurden mit den entsprechenden Werten der anderen Verlaufskontrollen gemittelt, und wie die Abbildungen 11 bis 15 zeigen, dargestellt. Ein solches Verfahren war notwendig, da bei den verschiedenen Patienten die Proben in unterschiedlichen, zeitlichen Abständen entnommen wurden, und auch die gesamte Behandlungsdauer stark variierte.

Das klinische Erscheinungsbild wurde nach der Stärke des Erythems, dem Grad der Schuppung und der Anzahl der Papeln, Vesikel oder Papulo-Vesikel beurteilt. Zur Einteilung dienten halbquantitative Begriffe wie wenig, mässig, viel oder massenhaft. Das Symptom Juckreiz blieb bei der Auswertung unberücksichtigt, da es wegen der unterschiedlichen, subjektiven Empfindung schlecht fassbar war.

(x)

Sämtliche Versuchsmuster wurden freundlicherweise von Herrn Dr. Gillissen, Byk-Essex, Pharmazeutische Gesellschaft mbH. München, bereitgestellt.

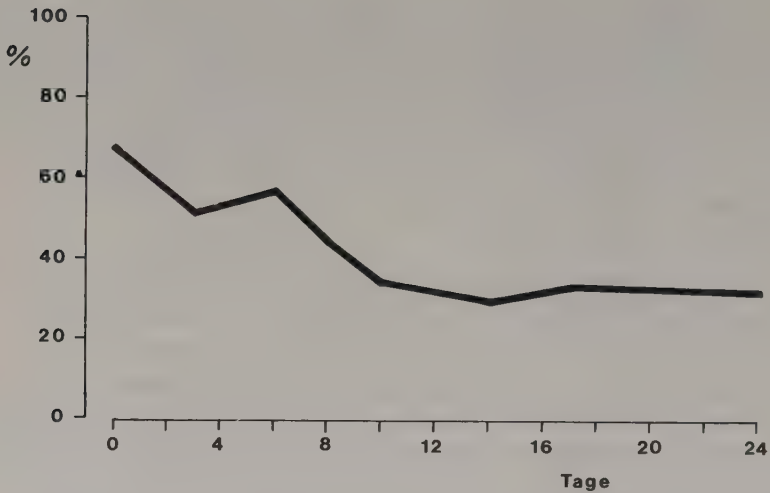


Abbildung 10:

Prozentsatz der Zellen mit ungeordneter, schwacher oder fehlender Trabekelstruktur. Es ist der Verlauf während der Steroid-Behandlung eines Unterschenkelektzems eines 74-jährigen Mannes dargestellt.

2. Ergebnisse:

a) Klinischer Verlauf:

In Abbildung 11 ist der Verlauf der Hauterscheinungen veranschaulicht. Es sind Mittelwerte aus 18 Einzelbeobachtungen bei 17 Patienten dargestellt. Dabei fällt auf, dass die mässigen bis starken Hautveränderungen im akuten Stadium, welche die Patienten in die Klinik geführt hatten, während der ersten Behandlungsperiode stark zurückgehen. Nach einer Woche sind in der Mehrzahl der Fälle nur noch schwache klinische Erscheinungen festzustellen. Diese geringen Veränderungen bilden sich langsamer zurück. Sie sind aber meist nach 2 bis 3 Wochen auch verschwunden.

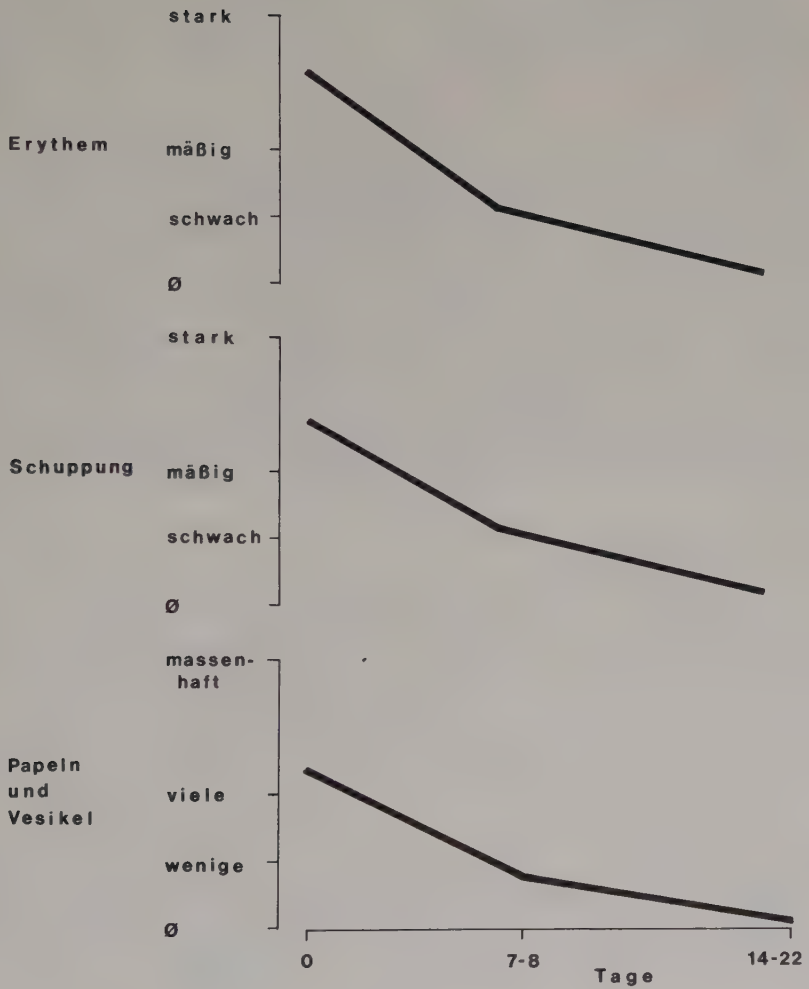


Abbildung 11:

Verlauf der Hauterscheinungen bei Behandlung von Ekzemherden mit Corticosteroiden N= 18

b) Morphologische Parameter:

Zellumriss:

Wie in den obigen Abschnitten dargelegt, wurden die Zellen in pentagonale, hexagonale und unregelmässige eingeteilt. In den Kontrollpräparaten von klinisch gesunder Haut bei Ekzematikern liegen diese Ausprägungen zu 28 %, 18 % und 54 % vor. Dagegen sind Ekzemzellen zu fast 70 % unregelmässig konturiert. Dieser Wert ist gegenüber den Kontrollwerten signifikant erhöht ($p < 0.05$). Er verändert sich im Verlauf der Behandlung nur unwesentlich. Das Verhältnis von fünfeckigen zu sechseckigen Zellen bleibt konstant etwa 3 : 2. Eine Tendenz zur Annäherung an die Kontrollwerte ist deutlich erkennbar.

Zellkerne und Kernreste:

In der statistischen Auswertung wurden Zellen mit soliden Kernen und solche mit Kernresten in einer Gruppe zusammengefasst. In Abbildung 12 sind jedoch beide Anteile getrennt ersichtlich. In den Kontrollpräparaten waren praktisch keine Zellkerne oder deren Reste nachzuweisen. Bei Proben von Ekzem-Manifestationen gelang dies jedoch bei fast 50 % der Zellen. Diese Kernpersistenz in der Hornschicht normalisierte sich während der Behandlungsdauer und bei Abschluss der Behandlung, nach 2 bis 3 Wochen, waren die Kontrollwerte wieder erreicht. Das Erscheinen von Kernstrukturen bei Ekzem ist signifikant ($p < 0.01$) gegenüber den Kontrollpräparaten und den Präparaten nach dem Abklingen der klinischen Erscheinungen. Die Anzahl der Zellen mit Kernschatten, normalerweise 40 %, war bei Ekzem auf knapp 30 % (nicht signifikant) verringert und näherte sich im Verlauf der Behandlung wieder dem Kontrollwert. Dieses Verhalten legt den Schluss nahe, dass Kernschatten keinen pathologischen Wert besitzen sondern daß umgekehrt die Abnahme ihrer Häufigkeit

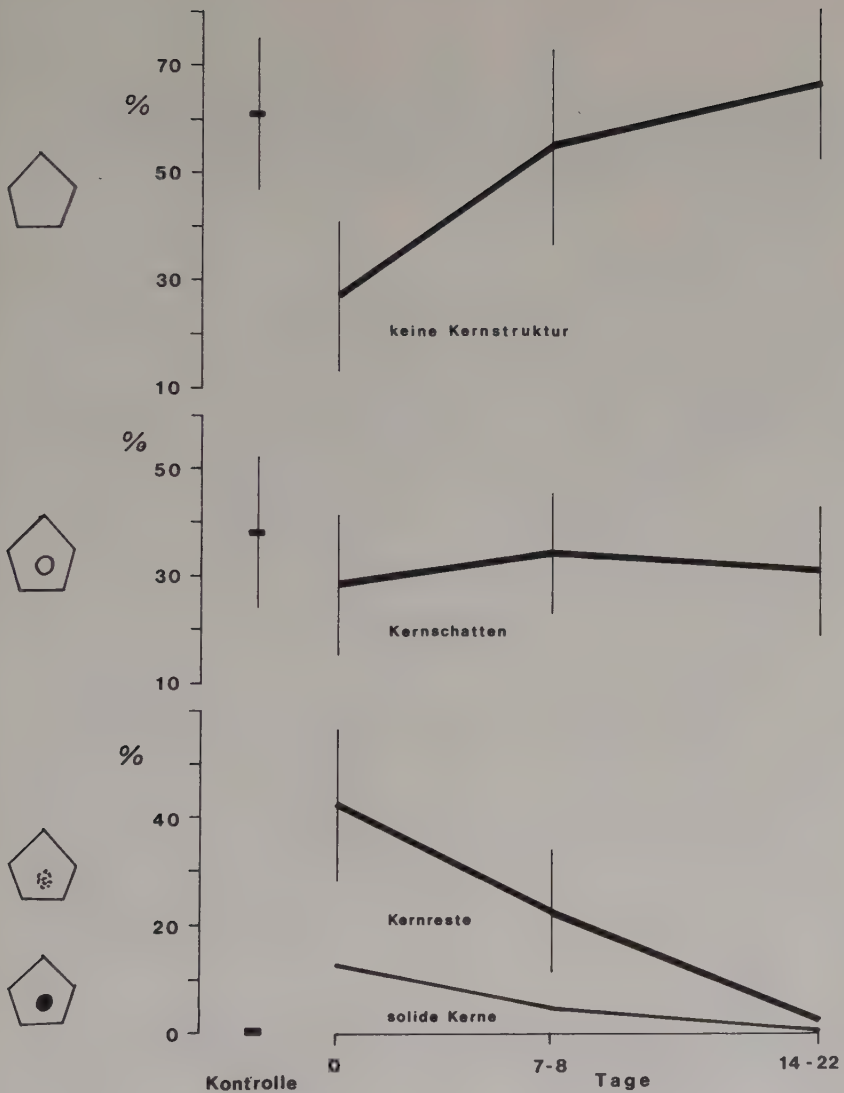


Abbildung 12:

Prozentsatz der Hornzellen mit Kernstrukturen während der Behandlung von Ekzemherden mit Corticosteroiden. Die Werte von klinisch gesunder Haut sind als Kontrolle gegenübergestellt. Die Abbildung faßt etwa 5000 Einzeldaten zusammen.

N = 18

eine Störung der physiologischen Zellmorphologie bedeutet. Der Prozentsatz der Zellen ohne Kernstruktur verhält sich notwendigerweise komplementär zu dem der übrigen (siehe Abbildung 12).

Trabekelstrukturen:

Die Veränderungen der Trabekelstrukturen sind in Abbildung 13 dargestellt. In der statistischen Auswertung wurden Hornzellen mit fehlenden Strukturen und ungeordneten oder schwach ausgebildeten Trabekeln zusammengefaßt und den Zellen mit deutlicher und regelmässiger Struktur gegenübergestellt. Es zeigt sich, daß in den Kontrollpräparaten von klinisch gesunder Haut über 80 % der Zellen deutliche und regelmässige Trabekel besitzen. Bei Ekzemzellen beträgt dieser Prozentsatz aber nur noch 34 %. Er steigt während der Behandlung mit Corticosteroiden wieder auf 72 % an, erreicht aber nicht ganz den Kontrollwert. Ein Vergleich der Trabekelstruktur bei Ekzemzellen mit Kontrollpräparaten und Zellen nach Behandlung ergibt signifikante Unterschiede ($p < 0.01$). Der Verlauf des Trabekelverhaltens geht dem Kernverhalten parallel. Bei beiden beobachteten Parametern bringt die erste Behandlungsphase eine schnellere Normalisierung der morphologischen Veränderungen, während sich im weiteren Verlauf die Werte nur allmählich denen der Kontrolle nähern. Dieses Verhalten entspricht auch dem klinischen Verlauf (vgl. Abb. 11).

Die Bedeutung der Trabekel, ihre Ausbildung durch die architektonische Anordnung der Hornzellen im Stratum corneum und die Abhängigkeit der Trabekel von der epidermalen Kinetik werden in der Diskussion (Seite 68) erläutert.

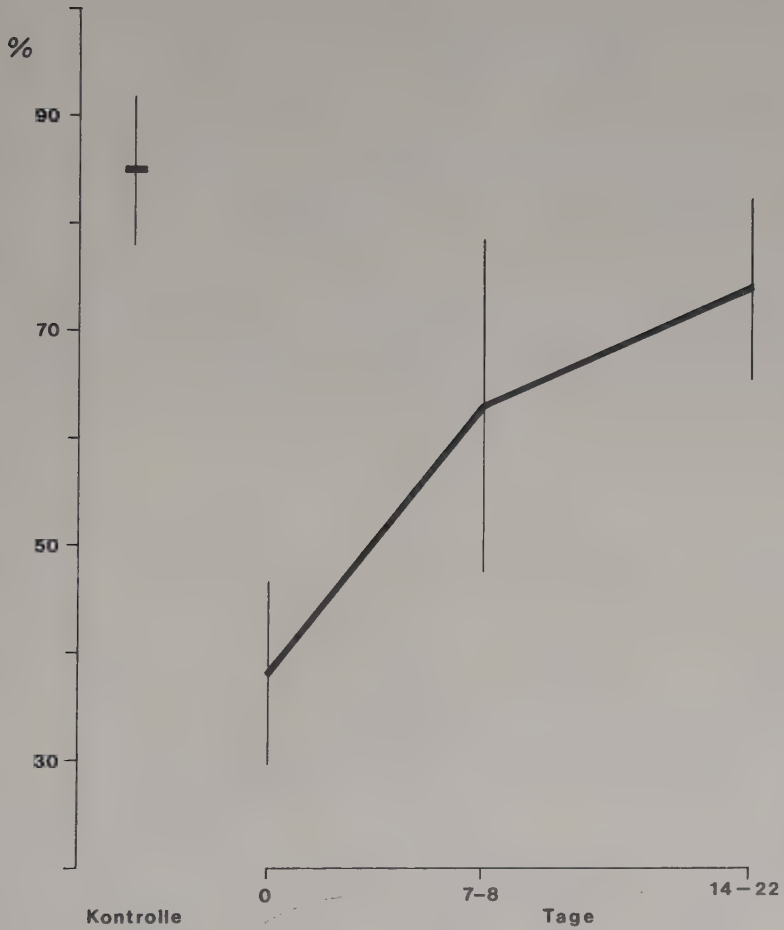


Abbildung 13:

Zunahme der Hornzellen mit deutlichen und regelmässigen Trabekeln während der Behandlung von Ekzemherden mit Corticosteroiden. Kontrollwerte klinisch gesunder Haut sind gegenübergestellt. N = 18. Die Darstellung fasst etwa 5.000 Einzeldaten zusammen.

Zellzählung:

In der Abbildung 14 sind die Ergebnisse der Zellzählungen wiedergegeben. Es ist ersichtlich, dass von klinisch er-scheinungsfreier Haut etwas weniger als 100.000 Zellen pro cm^2 Hautfläche abgewaschen werden können. An Ekzemher-den steigt diese Zahl im Durchschnitt auf das Doppelte. Dieser Unterschied ist signifikant ($p < 0.05$) obwohl die Messwerte über einen weiten Bereich streuen, was die grosse Standardabweichung verdeutlicht (Abb.14).

Nach 2-4tägiger Applikation von Steroiden ist ein weiterer, geringer Anstieg zu erkennen. Dann fällt die Zellzahl an-fangs steil, später etwas flacher ab und erreicht nach dem Verschwinden der klinischen Erscheinungen Werte, die wenig unter denen der Kontrolle liegen. Dabei ist die Streubreite der Messwerte wieder im Normbereich.

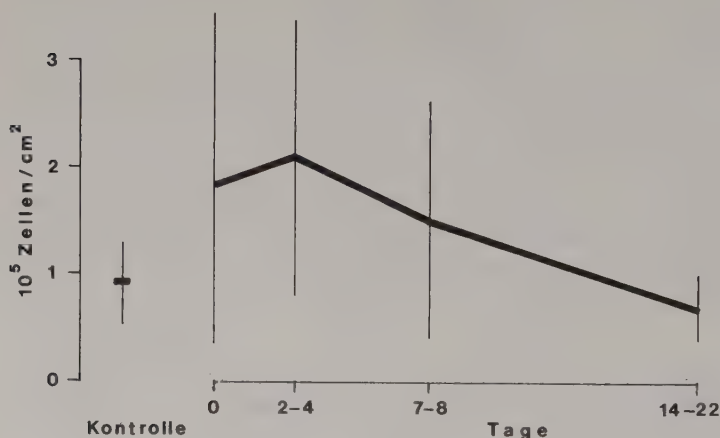


Abbildung 14:

Anzahl der Hornzellen pro cm^2 Hautfläche, die mit der Detergens-Technik gewonnen werden. Der Verlauf während der Behandlung von Ekzemherden mit Corticosteroiden ist dargestellt. Kontrollwerte von klinisch gesunder Haut sind angegeben. N = 18

Zellfläche:

Wie die Untersuchungen anderer Autoren (Plewig u. Marples [58] , Plewig [51]) ergaben, besitzen die Hornzellen der Epidermis verschiedene Grössen je nach Körperregion oder Alter und Geschlecht des Patienten. Im vorliegenden Falle wurden aber Zellen aus verschiedenen Regionen bei Patienten unterschiedlichen Alters untersucht. Ein absoluter Grössenvergleich der Zellen war deshalb nicht möglich. Um diese Variablen auszuschalten, wurden ausschliesslich Flächendifferenzen als Parameter benützt. Als Bezugswerte dienten die Flächen der unbehandelten Ekzemzellen. Die Messwerte der Zellen von klinisch gesunder Haut wurden deshalb nicht als Vergleichsbasis verwendet, weil nicht bei allen Patienten eine Kontrollprobe gewonnen werden konnte. Die Ergebnisse sind in Abbildung 15 dargestellt.

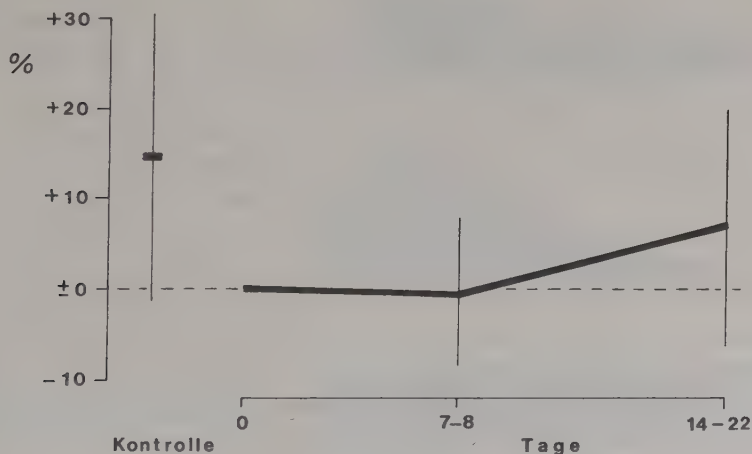


Abbildung 15:

Veränderungen der Hornzell-Fläche in Prozent bei Behandlung von Ekzemherden mit Corticosteroiden, bezogen auf die Fläche unbehandelter Ekzemzellen. Die Fläche der Kontrollzellen von klinisch gesunder Haut ist gegenübergestellt. N = 18

Es zeigt sich, dass Ekzemzellen signifikant ($p < 0.05$) um etwa 15 % kleiner sind als Zellen von klinisch gesunder Haut. Während der Behandlung mit Corticosteroiden ist zunächst keine eindeutige Grössenänderung festzustellen. Nach 2 - 3 Wochen vergrössert sich jedoch die Zellfläche um etwa 10 %, d.h. die Zellgrösse nähert sich den Kontrollwerten, ohne diese ganz zu erreichen. Die Tatsache, dass Ekzemzellen im Durchschnitt kleiner sind als Kontrollzellen war überraschend, da bei qualitativer Betrachtung der Präparate einzelne ausserordentlich grosse Ekzemzellen imponierten. In der Tat stammten die grössten Zellen, die im Verlauf der Studie gefunden wurden, von Ekzem-Manifestationen. Dies ist jedoch nur Ausdruck einer gesteigerten Polymorphie der Ekzemzellen, und bietet keinen Anhalt für eine allgemeine Vergrößerung der Corneozyten.

c) Zusammenfassung:

In Abbildung 16 sind die Veränderungen der in den vorangehenden Abschnitten erwähnten wichtigsten Parameter zusammengefasst und ihren Kontrollwerten gegenübergestellt. Alle dargestellte Kriterien zeigen, ausgehend von einer erheblich pathologisch veränderten Morphologie, während der Behandlungsphase eine Annäherung an die Kontrollwerte. Mit Abschluss der Behandlung, d.h. mit dem Abklingen der klinischen Hauterscheinungen sind auch die Kernstrukturen in den Zellen verschwunden. Die Trabekelstrukturen und die Zellzahl entsprechen ebenfalls wieder der Norm. Der Prozentsatz der Zellen mit unregelmässigem Umriss und die Zellfläche besitzen eine Tendenz, sich den Kontrollwerten zu nähern.

Zusammenfassend ergibt sich Folgendes:

Die Morphologie der Hornzellen ist bei ekzematös veränderter Haut wesentlich gestört. Alle untersuchten Kriterien zeigen eine beträchtliche Abweichung von der Norm. Dabei entspricht die Norm den Verhältnissen an klinisch gesunder Haut bei Ekzematikern. Durch die Behandlung mit Corticosteroiden werden alle morphologischen Parameter parallel zur Besserung

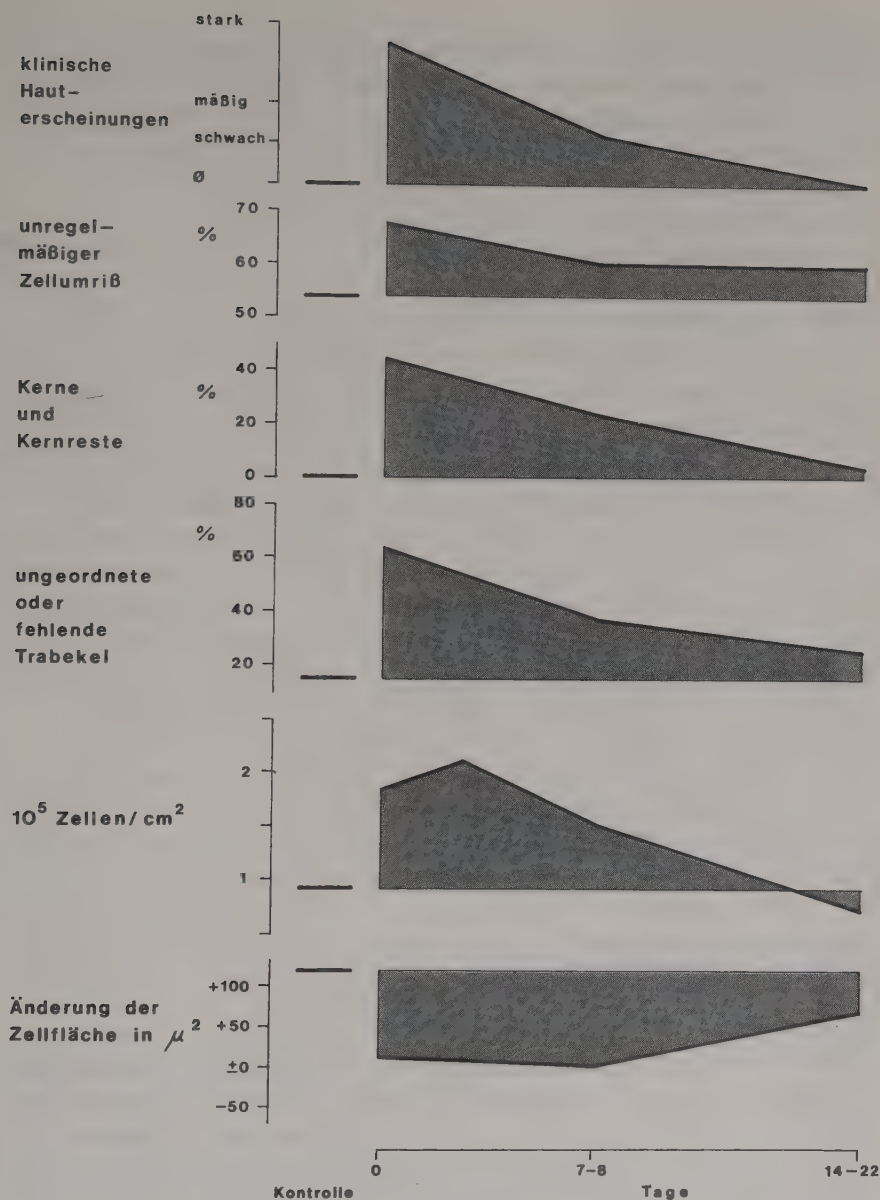


Abbildung 16:

Zusammenfassung der wichtigsten klinischen und zellmorphologischen Parameter während der Behandlung von Ekzemerden mit Corticosteroiden in Beziehung zu Kontrollwerten von klin. gesunder Haut. In der Abbildung sind etwa 25.000 Einzelmessungen zusammengefasst.

des klinischen Bildes normalisiert. Zellfläche und Zellumriss folgen dieser Entwicklung verzögert. Der Zusammenhang zwischen Zell-Morphologie und beschleunigter Epidermopoese als Ursache der pathologisch veränderten Hornzellgestalt wird in Abschnitt E (Seite 66 ff.) eingehend diskutiert.

II. Experimentelle Dermatitis

1. Beobachtungsgut, Durchführung.

Die im vorangehenden Abschnitt beschriebenen Untersuchungen konnten die morphologischen Veränderungen von Hornzellen bei Ekzem und dessen Behandlung mit Corticosteroiden aufzeigen.

Um aber eine genauere Aussage über die Wirkung der Steroide einerseits und den phasenförmigen Verlauf der morphologischen Veränderungen bei entzündlichen Dermatosen andererseits zu ermöglichen, wurde die Hautreaktion an Hand von zwei definierten Entzündungsmodellen überprüft. Es wurde experimentell jeweils durch mechanischen Hornschichtabriss (HSA) und chemische Reizung mit Vitamin-A-Säure (VAS) eine Dermatitis erzeugt. Diese wurde mit zwei verschiedenen Steroiden behandelt. Zur Kontrolle wurde auch das spontane Abklingen der Entzündung und die damit verbundenen morphologischen Zellveränderungen beobachtet. Dieses Vorgehen ermöglichte einen exakten Vergleich sowohl zwischen behandelter und unbehandelter Epidermis, als auch zwischen den beiden verwendeten Glucocorticoiden.

Für diese Untersuchung stellten sich freiwillig 6 weibliche und 5 männliche Probanden im Alter zwischen 23 und 33 Jahren zur Verfügung.

Um eine möglichst grosse Anzahl von vergleichbaren Präparaten zu erhalten, wurden bei jedem der Freiwilligen alle vorgesehenen Untersuchungen durchgeführt. Dies gestattete einen direkten statistischen Vergleich paarweise gekoppelter Messwerte, und es konnten auch trotz der relativ niedrigen Zahl von 11 Probanden signifikante Ergebnisse erwartet werden. Da morphologisches und funktionelles Verhalten der Epidermis bei den ver-

schiedenen Versuchen möglichst gleich sein sollte, wurde als ein gleichförmiges Hautareal von grosser Ausdehnung der Rücken für die experimentellen Untersuchungen herangezogen.

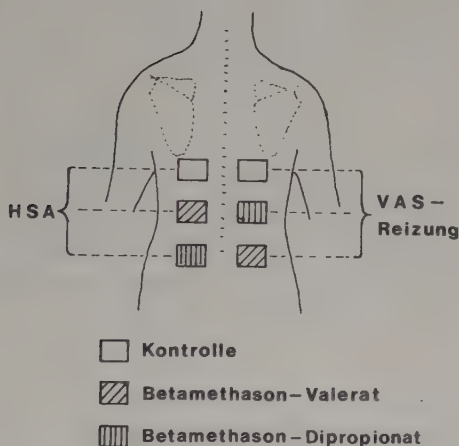


Abbildung 17:
Schema der Versuchsfelder am Rücken der Probanden.

Zu diesem Zweck wurden, wie die Abbildungen 17 und 19 zeigen, handbreit beiderseits der Wirbelsäule je 3 Versuchsfelder etwa 8 x 5 cm gross markiert.

In den 3 linken Feldern wurde mit Tesafilm^R die Hornschicht sukzessive entfernt [45,46,79] .

Hierzu waren etwa 20 - 25 Klebestreifenabriss erforderlich. Dann konnten keine Hornzellen mehr gewonnen werden und die Epidermis glänzte feucht ("glistening").

Das mittlere dieser "gestrippten" Felder wurde mit Betamethason-17-Valerat-Creme behandelt. Die 0,1 %ige Creme wurde 2 x täglich aufgetragen und leicht eingerieben. Im unteren Feld wurde ebenso mit 0,05 %iger

Betamethason-17-Dipropionat-Creme verfahren. Diese Corticosteroid-Behandlung wurde 20 Tage lang durchgeführt. Das obere Feld diente als Kontrolle, hier wurde der spontane Verlauf der Hauterscheinungen und der Zellmorphologie verfolgt.

Der Beobachtungszeitraum erstreckte sich über 5 Wochen. Dabei wurden zwei- bis dreimal pro Woche Hornzellproben gewonnen. Die drei rechten Versuchsfelder wurden mit Vitamin-A-Säure behandelt. Die 0,1 %ige alkoholische Vitamin-A-Säure-Lösung wurde dreimal täglich mit der Fingerspitze oder einem Watte-

bausch aufgetragen.

Nach 12 bis 16 Tagen hatte sich eine Dermatitis mit Erythem und mässiger kleinlamellöser Schuppung ausgebildet [7,40] . VAS wurde nun abgesetzt und das mittlere und untere Feld wurden mit Betamethason-17-Dipropionat bzw. mit Betamethason-17-Valerat analog den durch HSA gereizten Hautstellen etwa 20 Tage lang behandelt. Das obere Feld blieb als Kontrollfeld unbehandelt.(vgl. Abb.17). Über die Versuchsdauer von 5 Wochen wurden ebenfalls zwei- bis dreimal pro Woche Zellproben entnommen und ausgewertet.

Die oberen Hautfelder dienten deshalb zur Kontrolle, da dort eine Kontamination durch die auf die übrigen Felder applizierten Pharmaka am besten vermieden wurde. Während des Beobachtungszeitraumes wurden Seife und Kosmetika strikt von den Versuchsfeldern ferngehalten. Sie sollten auch möglichst trocken bleiben. Da die Untersuchung im Spätherbst stattfand, war es leicht, Lichtexpositionen zu vermeiden.

VAS wird ausschliesslich lokal als Schälmittel verabreicht. Erste Berichte über eine Anwendung bei dermatologischen Erkrankungen stammen 1962 von Beer [5] und Stüttgen [67] und 1968 von Frost u. Weinstein [28] . 1969 wurde VAS erstmals systematisch bei Akne-Vulgaris angewendet (Kligman et al. [40] , Plewig [52,47]). Seither hat sich diese Behandlung als sehr erfolgreich erwiesen und ist auch auf weitere Akneformen ausgedehnt worden (Plewig [50] , Plewig u.Braun-Falco [54]). In jüngerer Zeit sind auch der stimulierende Effekt von VAS auf die Epidermisproliferation und die damit verbundenen histologischen und histochemischen Veränderungen untersucht worden (Christophers u. Braun-Falco [21] , Plewig u.Fulton [55] , Plewig et al [59]). Braun-Falco und Christophers [7] zeigten Parallelen zwischen Hautveränderungen bei Psoriasis und Reaktion bei VAS-Reizung auf.

Die Entwicklung der "Stripping-Methode" geht in ihren Anfängen auf Pädiater zurück, die damit an der Analschleimhaut nach Wurmeiern fahndeten. Wolf [79] benützte 1939 zur Unter-

suchung der Epidermis eine Adhäsionsmethode. Ihm gelang es damit erstmals Aufsichtpräparate von Hornzellen zu gewinnen.

Pinkus [45] war jedoch 1951 der erste, der durch Klebestreifenabriss möglichst die gesamte Hornschicht abtrug und eine mitotische Aktivität als Reizantwort fand. Ausgehend von diesen Experimenten wurden in der Folgezeit von verschiedenen Autoren Befunde, die durch HSA gewonnen wurden, mitgeteilt.

(Pinkus [46] , Szakall [68] , Williams et al. [77] , Christophers [20,15,19] , Braun-Falco et al. [8] , Christophers et al. [21]).

Im Mittelpunkt dieser Untersuchungen stand die Regenerationsdynamik der Epidermis bei gesunder und krankhaft veränderter Haut.

2. Ergebnisse:

a) Reizung durch HSA

aa) Klinischer Verlauf:

Unmittelbar durch den HSA wurde ein starkes Erythem hervorgerufen. Wie aus Abbildung 18 ersichtlich ist, klingt es schnell ab. Es erreicht am 5. Tag die halbe Intensität und verschwindet nach ca. 14 Tagen. Die mit Steroiden behandelten Hautfelder zeigen aber eine wesentlich beschleunigte Normalisierung. Ihre Intensität fällt schon am 3. Tage auf die Hälfte ab und um den 10. Tag ist das Erythem hier verschwunden. Betamethason-Dipropionat zeichnet sich durch eine grössere Wirksamkeit aus als Betamethason-Valerat. Die Proben am 2. und 5. Tag zeigten einen signifikanten Unterschied zwischen Kontrolle und Behandlung ($p < 0.01$). In der durch HSA bedingten Erosion tritt seröses Sekret aus, das oberflächlich eintrocknet. Diese Verkrustung wird schon primär bei ihrer Entstehung durch die Corticosteroid-Behandlung günstig beeinflusst. An der behandelten

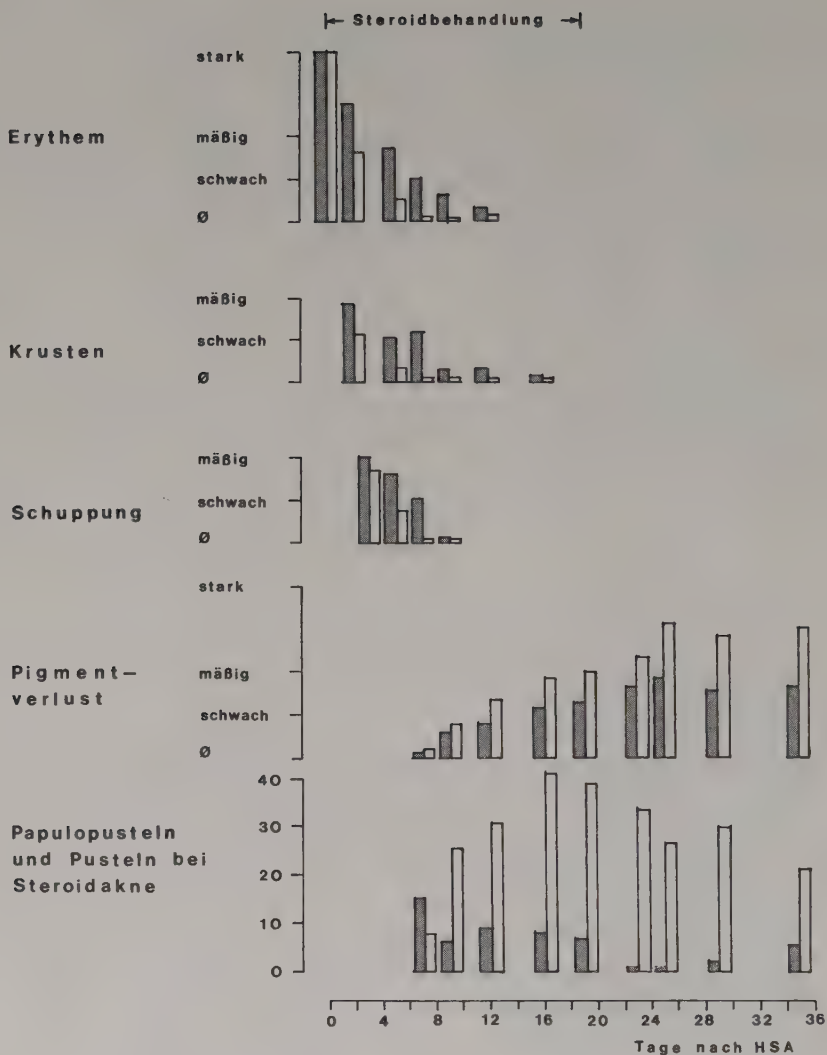


Abbildung 18:

Verlauf der klinischen Hauterscheinungen nach HSA und Behandlung mit Betamethason-Dipropionat (helle Säulen). Die dunklen Säulen zeigen den spontanen Verlauf nach HSA ohne nachfolgende Steroidbehandlung. Mittelwerte von 11 Probanden.

Epidermis ist sie nach 10 Tagen verschwunden, während sie auf den Kontrollfeldern noch einige Tage länger bestehen bleibt. Am 3. Tag nach HSA tritt zusätzlich eine feinlamellöse Schuppung auf. Sie verliert bald an Stärke und ist nach dem 9. Tag nicht mehr nachzuweisen. Die Kontrollfelder schuppen deutlich stärker als die mit Steroiden behandelten Hautfelder. Vom 5. bis 7. Tag ist dieser Unterschied signifikant ($p < 0.01$). Auch hier zeigt Betamethason-Dipropionat gegenüber Betamethason-Valerat eine stärkere Wirkung.

Neben diesen unmittelbar durch den HSA bedingten Hauterscheinungen zeigen sich nach etwa einer Woche Hautreaktionen, die durch die Steroidbehandlung hervorgerufen oder gefördert werden:

- Nach 7 Tagen ist an den durch HSA gereizten Hautarealen ein zunehmender Pigmentverlust zu erkennen. Diese Abblassung der Haut steigert sich noch bis 7 Tage nach Absetzen der Behandlung und bleibt bis über den Beobachtungszeitraum hinaus bestehen. Sie ist besonders deutlich bei stärker pigmentierter Haut. Dabei zeigt die behandelte Haut einen signifikant grösseren Pigmentverlust als die Kontrolle.
- Eine Woche nach HSA und Corticosteroidbehandlung erschienen bei 4 der männlichen Probanden und in geringem Masse auch bei einer weiblichen Versuchsperson zahlreiche Effloreszenzen. Es bildeten sich follikulär angeordnete, teilweise entzündlich gerötete, monomorphe Papeln und Papulopusteln (Abb.19,20). Nach den experimentellen Befunden von Flewig und Kligman [56] entspricht dies dem charakteristischen Bild einer Steroidakne. In Abbildung 18 ist die Anzahl der Effloreszenzen im gesamten Untersuchungs-Kollektiv dargestellt. Nach Absetzen der Steroidbehandlung verschwinden die Effloreszenzen allmählich wieder. Bei zwei der Probanden entstanden aber Comedonen, die über mehrere Wochen bestehen blieben. Dieses Verhalten ist ebenfalls typisch für eine Steroidakne. Die Tatsache, daß auch auf den Kontrollfeldern vereinzelt Papeln auftraten, lässt sich wahrscheinlich durch einen Schmiereffekt erklären. Die Anzahl

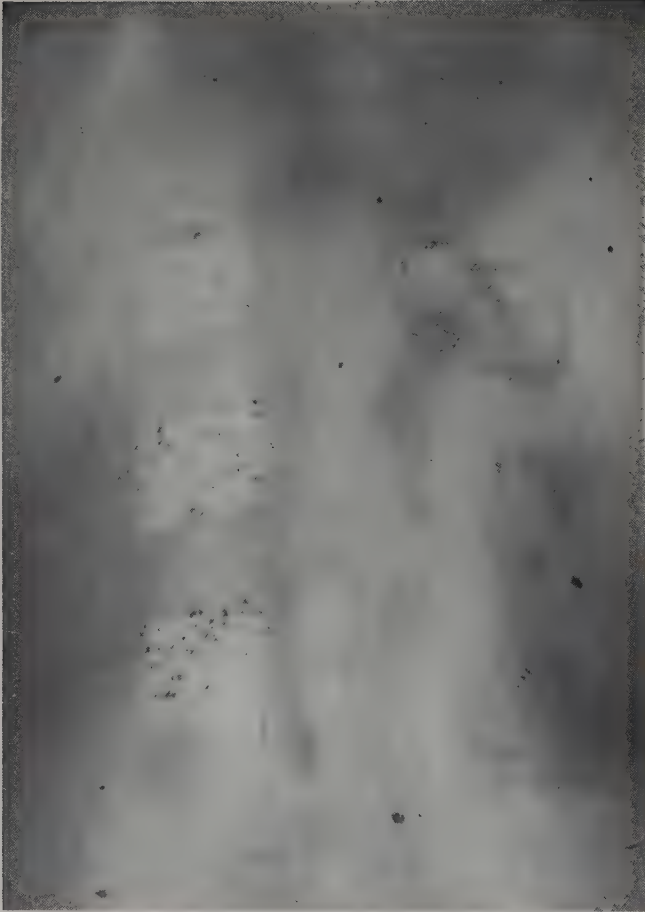


Abbildung 19:
6 Versuchsfelder am Rücken; links 20 Tage nach HSA: Ein Pigment-
verlust ist deutlich sichtbar; zahlreiche Papeln, am mittl.u.
unt.Feld; rechts 5 Tage nach VAS-Reizung: geringes Erythem;
Kratzeffekte, der Juckreiz unter VAS-Therapie ist typisch [47] .

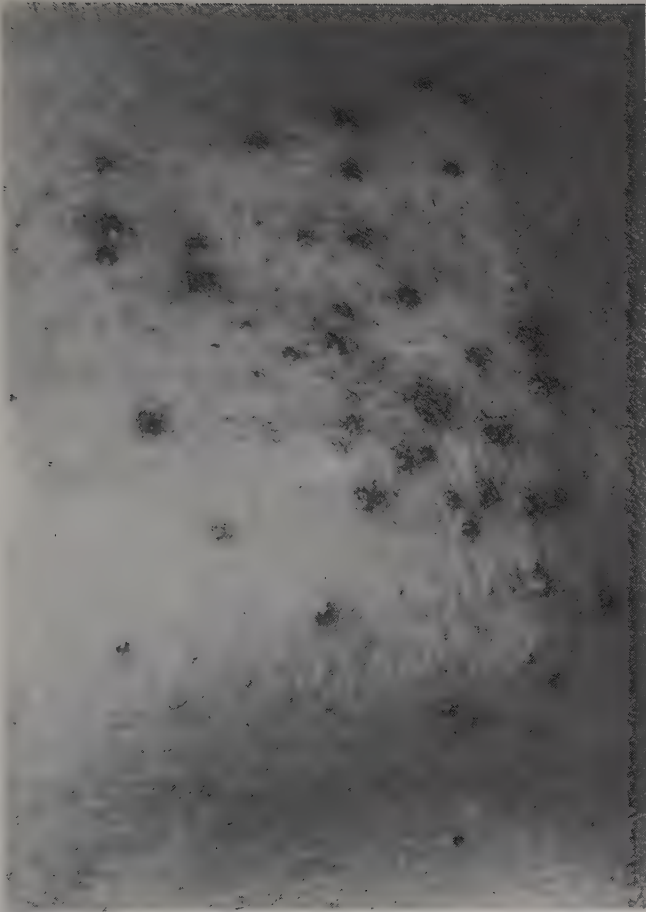


Abbildung 20:
Zahlreiche, monomorphe, entzündlich gerötete Papulopusteln
und Pigmentverlust. Unterer Rücken, 20 Tage nach HSA und
Steroid-Applikation (Betamethason-Dipropionat).

der Effloreszenzen ist jedoch in den steroidbehandelten Feldern signifikant höher ($p < 0.01$).

bb) Morphologische Parameter

Zellumriss

Die hier untersuchten Hornzellen von gesunder Haut sind zu 31 % pentagonal zu 23 % hexagonal und zu 46 % unregelmässig umrissen. Unmittelbar nach HSA zeigen die wenigen Zellen, die mit Hilfe der Detergens-Lösung noch gewonnen werden können, zu 70 % einen unregelmässigen Umriss. Am 3. Tag ist eine weitere Zunahme der unregelmässigen Zellen bis auf etwa 85 % zu beobachten. Dieser Prozentsatz ist gegenüber den Kontrollwerten von normaler Haut signifikant erhöht ($p < 0.01$). Nach 7 Tagen nehmen die regelmässig geformten Zellen wieder zu. Bei Abschluss der Steroidbehandlung sind die Ausgangswerte noch nicht vollständig erreicht, erst 14 Tage später entspricht die Häufigkeitsverteilung wieder den Kontrollwerten. Während der gesamten Untersuchung überwiegen die fünfeckigen Zellen gegenüber den sechseckigen etwa im Verhältnis 3 : 2. Ein eindeutiger Einfluss der Corticosteroid-Behandlung auf den Zellumriss lässt sich in diesem Versuchsmodell nicht nachweisen.

Kernstrukturen

Hornzellen von klinisch gesunder Haut enthalten keine Kerne oder Kernreste. 24 % der Zellen besitzen jedoch einen Kernschatten.

Wie in Abbildung 21 gezeigt wird, erscheinen aber am 3. Tag nach HSA eine erhebliche Anzahl von Zellen mit Kernen oder Kernresten. Sie erreichen einen Anteil von über 50 %, während die Zellen mit Kernschatten nur noch 10 % ausmachen. Sowohl

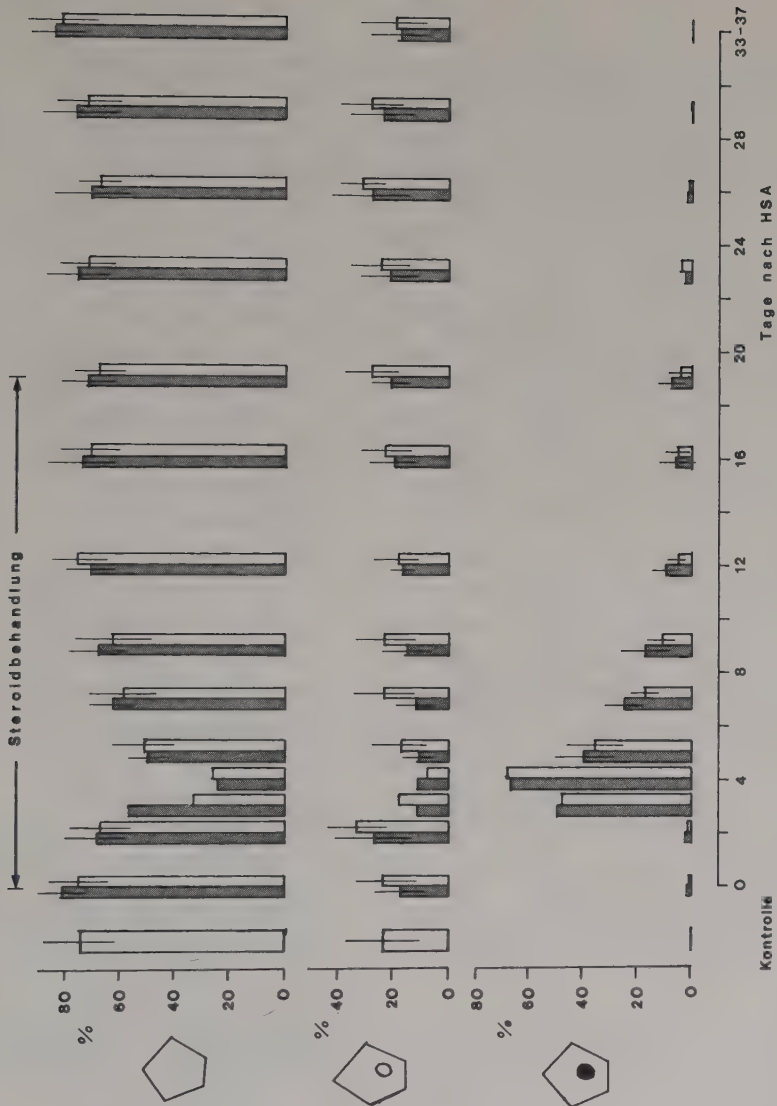


Abbildung 21:

Prozentuale Verteilung der Hornzellen mit und ohne Kernstrukturen sowie mit Kernschatten nach HSA. Dunkle Säulen: ohne Steroidbehandlung; helle Säulen: Behandlung mit Beta-methason-Dipropionat; Kontrollwerte normaler Haut sind gegenübergestellt; N=11

der Anstieg der kernhaltigen Zellen, wie auch der Abfall der Zellen mit Kernschatten ist signifikant ($p < 0.01$). Die Hornzellen mit Kernresten nehmen im weiteren Verlauf schnell ab, die Zahl der kernschattenhaltigen Zellen steigt an. Etwa 3 Wochen nach HSA entspricht die Hornzell-Morphologie hinsichtlich der Kernstrukturen wieder den Verhältnissen an gesunder Haut.

Es fällt auf, daß die mit Steroiden behandelten Hornzellen schneller ihre Kernreste verlieren und in einer grösseren Zahl Kernschatten enthalten, als die unbehandelten Corneozyten. Bei der statistischen Analyse der Zusammenhänge zwischen Versuchsperson, Behandlungsart und Zellmorphologie, in diesem Falle Kernstrukturen, mit dreidimensionalen Kontingenztafeln [70,71] erwies sich folgendes:

Am 7., 10., und 19. Tag bestand eine Abhängigkeit zwischen Kernverhalten und Behandlungsform, d.h. die Steroidbehandlung übte einen signifikanten Einfluss auf die Ausprägung von Kernresten und Kernschatten aus. Weiterhin wurde festgestellt, daß die Zellmorphologie von der Versuchsperson abhängig war. Es darf hier im Vorgriff erwähnt werden, daß dies bei allen mit Kontingenztafeln durchgeführten Tests der Fall war. Hierdurch wird, durch die unterschiedliche Zellmorphologie der einzelnen Versuchspersonen, die Wirkungsprüfung der Corticosteroide erschwert.

Aus diesem Grunde wurde, ausgehend von den individuellen Messwerten eines jeden Probanden, ein weiteres Testverfahren durchgeführt. Es wurden die Messwerte eines Parameters graphisch aufgetragen, und ihre Rückbildung durch eine idealisierte Kurve angenähert. Aus dieser Kurve wurde, wie die Abbildung 22 zeigt, die Zeit entnommen, nach der die ursprünglich maximalen, morphologischen Veränderungen zur Hälfte abgeklungen waren. Diese HWZ wurde nach der Rangsummen-Statistik von Friedmann (zitiert nach [61]) für alle Probanden zwischen den spontan abheilenden und den beiden mit Steroiden behandelten Feldern verglichen.

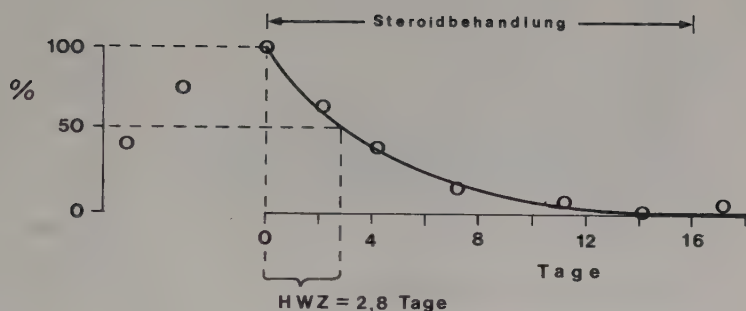


Abbildung 22:

Graphische Bestimmung der Zeit, in der die parakeratotischen Zellen auf die Hälfte abgesunken sind (HWZ)

Dieses Vorgehen besitzt den Vorteil, daß keine einzelnen Messwerte, die von dem aktuellen Ausmaß der Hautreaktion abhängen, sondern der gesamte Verlauf, repräsentiert durch die HWZ, in die Berechnung eingehen. Der Einfluss der individuell unterschiedlichen Zellmorphologie scheidet dadurch aus.

Für Kernreste und Kernschatten wurde durch die Steroid-Behandlung die HWZ von 3,5 auf 2,0 Tage signifikant verkürzt ($p < 0,01$). Betamethason-Dipropionat zeigte eine stärkere Wirkung als Betamethason-Valerat. Dieser Unterschied zwischen den beiden hochwirksamen Steroiden konnte statistisch nicht mehr gesichert werden.

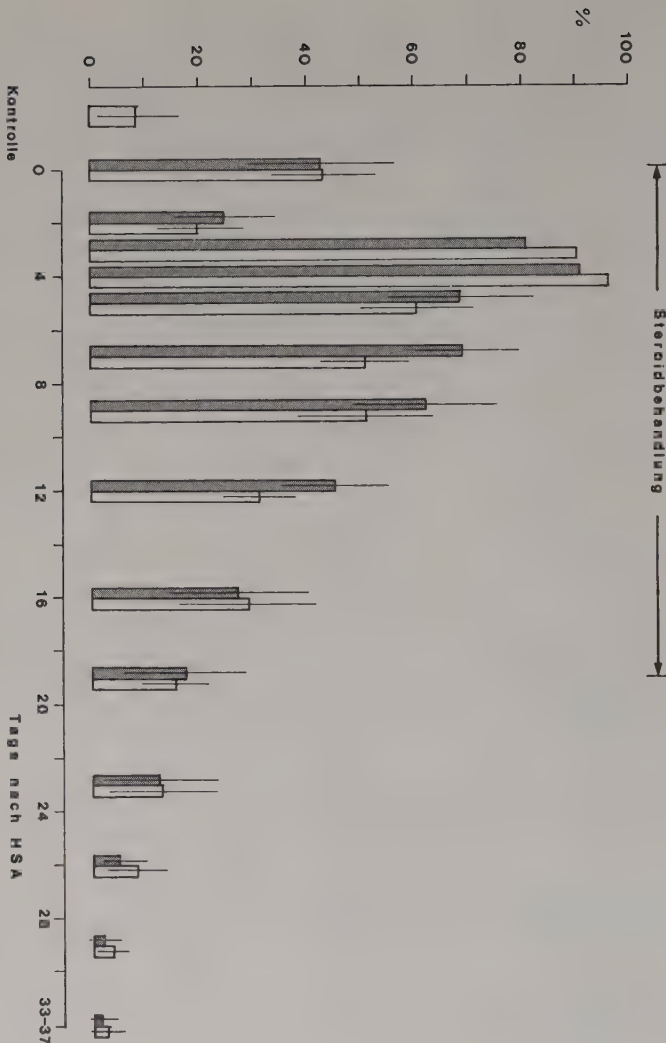


Abbildung 23:

Prozentsatz der Hornzellen mit schwach ausgebildeten, ungeordneten oder fehlenden Trabekelstrukturen nach HSA. Dunkle Säulen: ohne Steroidbehandlung; helle Säulen: Behandlung mit Betamethason-Dipropionat; der Kontrollwert normaler Haut ist gegenübergestellt; N=11

Trabekelstruktur (Abb.23):

Die gesunde Rückenhaut der untersuchten Probanden enthält an der Oberfläche zu über 90 % Hornzellen mit deutlichen oder regelmässigen Trabekelstrukturen. Unmittelbar nach HSA sinkt dieser Anteil auf etwa 50 %. Nach einer kurzen Normalisierungstendenz erscheinen am 3. Tag nach HSA 90 % Zellen mit schwachen, ungeordneten oder fehlenden Trabekelstrukturen. Dieser Anstieg ist hoch signifikant ($p < 0.01$). Danach nimmt der Anteil der pathologischen Zellen steil ab und folgt, ähnlich dem Kernverhalten, einer exponentiellen Kurve.

Die mit Corticosteroiden behandelten Zellen gewinnen ihre geordnete Trabekelstruktur im Vergleich zu unbehandelten Hornzellen schneller zurück. Vom 7. bis 12. Tag ist der Unterschied signifikant ($p < 0.05$). Auch die HWZ der behandelten Hautfelder wird signifikant von 6,8 auf 4,8 Tage verkürzt ($p < 0.01$). Betamethason-Dipropionat besitzt eine geringfügig bessere Wirkung als Betamethason-Valerat.

Die Kontrollwerte werden erst 7 Tage nach Abschluss der Behandlung wieder erreicht und am Ende des Beobachtungszeitraumes geringfügig unterschritten. Der Zusammenhang zwischen der Ausbildung geordneter Trabekelstrukturen und der Architektur des Stratum corneum, in Abhängigkeit von der Erneuerungszeit der Epidermis, wird in Abschnitt E (Seite 66 ff.) ausführlich diskutiert.

Zellzählung (Abb.24):

Von gesunder Haut können durch die Detergens-Technik etwa 75.000 Zellen pro cm^2 Hautfläche abgewaschen werden. Diese Zahl verringert sich unmittelbar nach HSA auf etwa 1.200, um dann in den folgenden 3 Tagen schnell wieder auf die Grössenordnung der Kontrollwerte anzusteigen, ohne sie jedoch ganz zu erreichen. Vom 7. bis 9. Tag können von den mit Corticoiden behandelten Hautfelder signifikant weniger

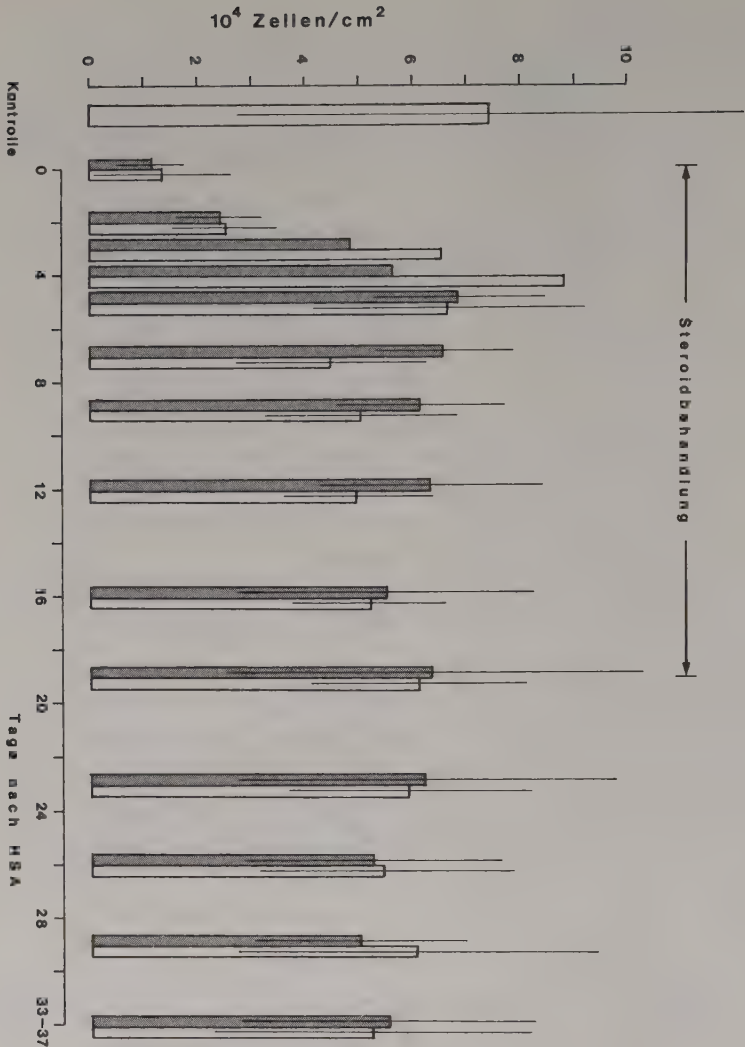


Abbildung 24:

Anzahl der Hornzellen pro cm² Hautfläche, die mittels der Detergens-Technik nach HSA gewonnen werden können. Dunkle Säulen: ohne Steroidbehandlung; helle Säulen: Behandlung mit Betamethason-Dipropionat; der Kontrollwert normaler Haut ist gegenübergestellt; N=11

Zellen gewonnen werden als von den unbehandelten Feldern. Anschliessend lassen sich keine eindeutigen Befunde mehr erheben. Die Werte besitzen eine breite Streuung und schwanken um etwa 60.000 Zellen pro cm^2 .

Zellfläche:

Die Fläche der Hornzellen nimmt am Rücken von cranial nach kaudal zu. Die untersuchten Hornzellen bei klinisch gesunder Haut waren im oberen Versuchsfeld $930\mu^2$, im unteren Versuchsfeld $1000\mu^2$ gross. Um die Hornzellen der verschiedenen Felder vergleichen zu können, wurden alle gemessenen Flächen auf den Wert der beiden mittleren Versuchsfelder bezogen. D.h. die Werte der unteren Felder wurden um $30\mu^2$ vermindert, die der oberen Felder um den gleichen Betrag erhöht.

Die Abbildung 25 zeigt den Verlauf der auf diese Weise korrigierten Flächen. Über den gesamten Beobachtungszeitraum sind die Werte einer Versuchsperson als Säulen dargestellt. Die gemittelten Werte aller Probanden erscheinen in etwa wöchentlichen Abständen, am 5., 12., 19., 26. und letzten Tag der Untersuchung.

Zunächst fällt auf, daß die Kurve zweigipfelig, wellenförmig verläuft. Betrachtet man nur die Fläche der unbehandelten Hornzellen, so sieht man nach einer initialen Zunahme ein Pendeln um den Ausgangswert nach Art einer Schwingung.

Die Zellflächen, der mit Steroiden behandelten Zellen sind mit Ausnahme weniger Einzelwerte deutlich kleiner als die Flächen unbehandelter Hornzellen. Dieser Unterschied nimmt während der Behandlungsdauer zu. Anschliessend wird er wieder geringer, ohne jedoch noch innerhalb des Beobachtungszeitraumes ganz zu verschwinden. In Abbildung 26 ist die relative Verkleinerung der Hornzellen durch die Corticosteroid-Behandlung nochmals übersichtlich dargestellt.

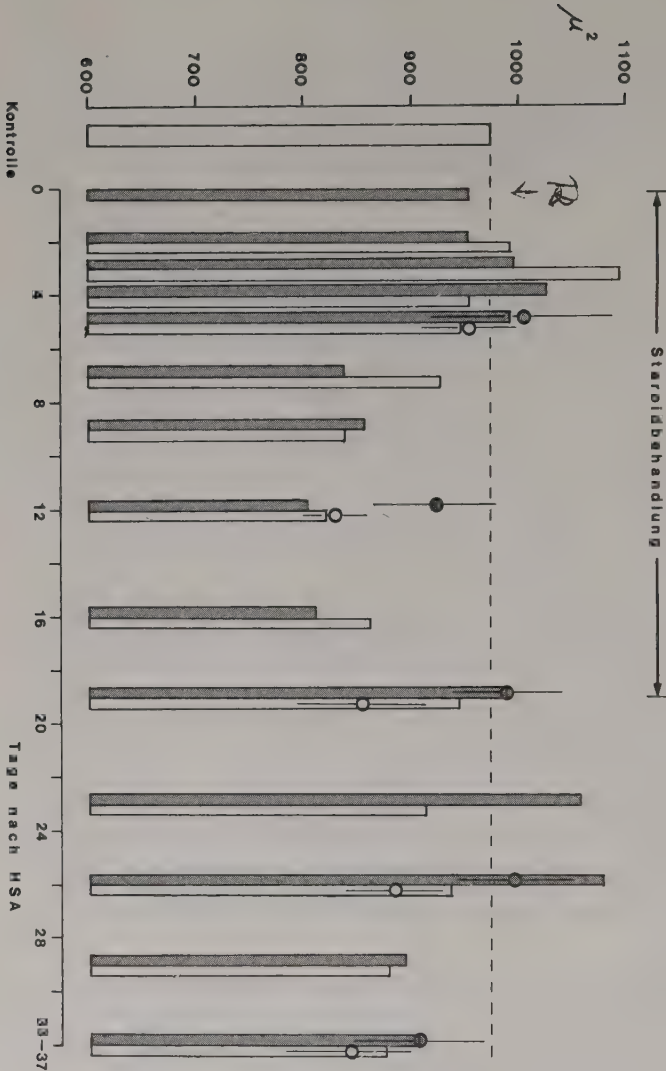


Abbildung 25:

Veränderungen der Hornzell-Fläche nach HSA. Dunkle Säulen: ohne Steroidbehandlung; helle Säulen: Behandlung mit Beta-methason-Dipropionat; Kreise: Mittelwerte von 11 Probanden; die Zellgröße normaler Rückenhaut ist als Kontrollwert angegeben. Nähere Erläuterungen im Text (S. 53)

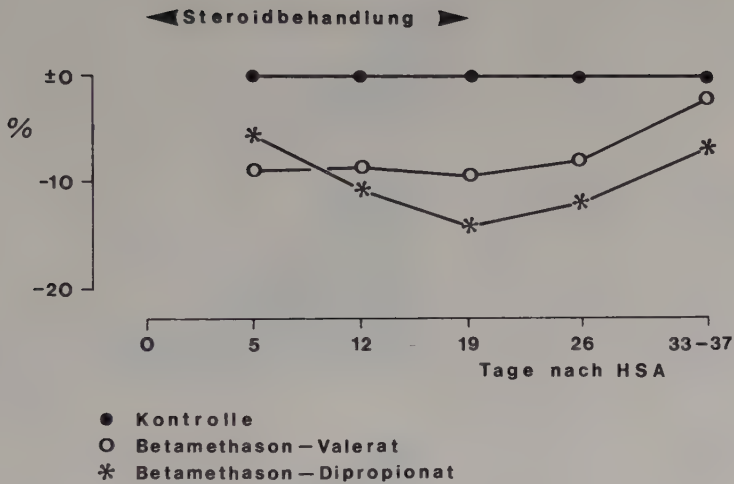


Abbildung 26:

Verkleinerung der Hornzellen durch Steroidbehandlung bezogen auf die Fläche unbehandelter Zellen.

Bei Absetzen der Behandlung beträgt die Differenz 9 % für Betamethason-Valerat und 14 % für Betamethason-Dipropionat. Dieser Unterschied ist statistisch gesichert ($p < 0.01$). Die Wirksamkeit von Betamethason-Dipropionat ist dabei signifikant stärker als jene von Betamethason-Valerat ($p < 0.05$).

Auch die Fläche der steroidbehandelten Hornzellen zeigt einen schwingungsförmigen Verlauf. Er wird, wie das Verhalten der unbehandelten Hornzellen beweist, ausschliesslich durch den HSA bedingt. Die Wirkung der Corticosteroide verschiebt die Zellgrösse aber vorübergehend auf ein niedrigeres Niveau. Auf diese Weise lässt sich der Verlauf, wie er in Abbildung 25 für behandelte Hornzellen dargestellt ist,

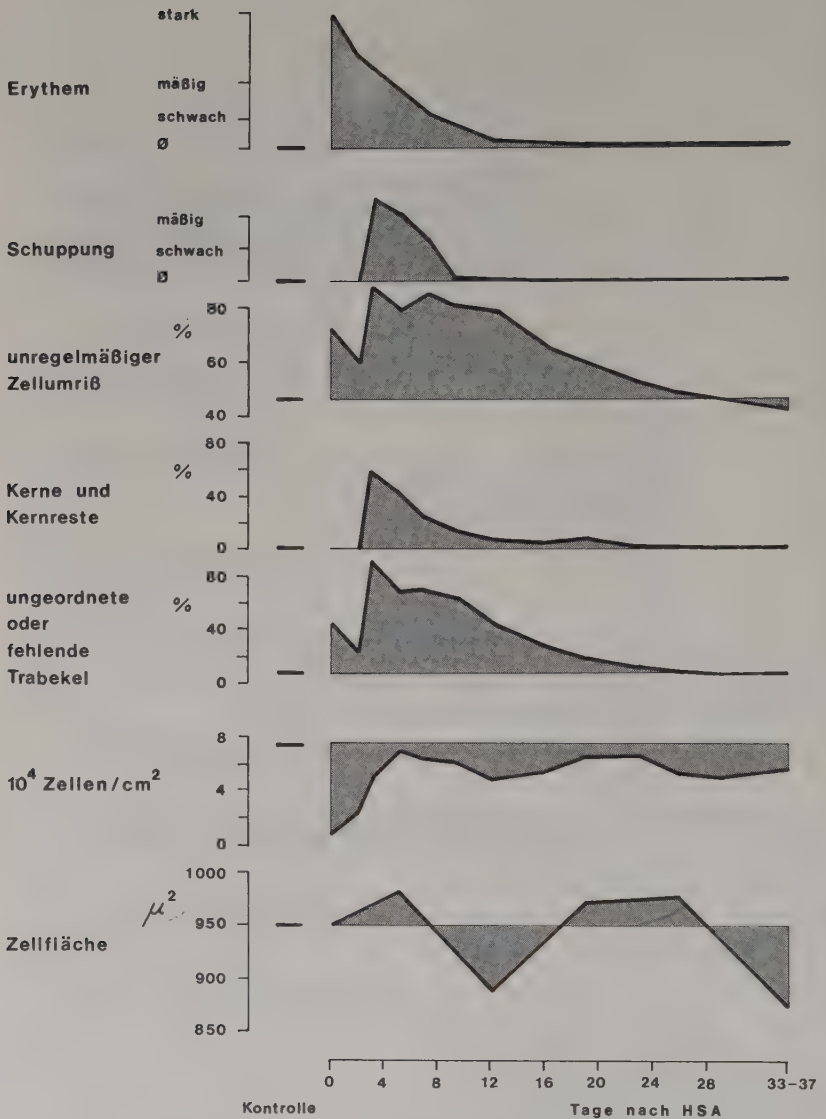


Abbildung 27:

Zeitliche Zuordnung der wichtigsten klinischen und zellmorphologischen Parameter nach HSA. Kontrollwerte klinisch gesunder Haut sind gegenübergestellt. N = 11

durch die Überlagerung zweier Faktoren, nämlich HSA und Steroidwirkung beschreiben. Eine Deutung dieser Befunde anhand von Zellkinetischen Überlegungen wird in der Besprechung der Ergebnisse (Seite 84) gegeben.

cc) Zeitliche Beziehung des klinischen und zellmorphologischen Verlaufs nach HSA.

In Abbildung 27 ist die Epidermisreaktion auf HSA anhand der wichtigsten klinischen und zellmorphologischen Parameter in ihrem zeitlichen Verlauf zusammengefasst. Unmittelbar nach dem HSA imponiert als klinischer Befund ein starkes Erythem, verursacht durch eine reaktive Hyperämie. Die Epidermis glänzt feucht, da durch die Entfernung des Stratum corneum Interzellularspalträume eröffnet sind und seröses Sekret austritt.

Die Veränderungen der Hornzell-Morphologie unmittelbar nach HSA sind im Gegensatz zum reaktiven Erythem nicht eine direkte Folge der mechanischen Reizung, sondern durch die veränderte Topographie der untersuchten Corneozyten bedingt. Durch den Klebstreifenabriss wird annähernd die gesamte Hornschicht (Hojyo-Tomoka, Kligman [34]) entfernt. Es können dann nur noch wenige Zellen mit der Detergens-Technik gewonnen werden. Sie entstammen ausnahmslos den untersten Schichten des Stratum corneum. Diese Zellen des unteren Stratum corneum sind in ihrem Umriss unregelmässiger und besitzen auch weniger ausgeprägte Trabekelstrukturen als die Hornzellen der Epidermisoberfläche. Sie enthalten aber keine Kernreste und unterscheiden sich hinsichtlich der Zellgrösse nicht von denen der obersten Schicht. Die Zellen nehmen also erst während ihrer Wanderung durch das Stratum corneum eine regelmässigere Form an und bilden dabei ihre geordneten Trabekelstrukturen.

Am 3. Tag nach HSA erscheinen synchron mit dem Auftreten von Schuppen viele Zellen mit Kernresten. Ein hoher Anteil der Zellen ist unregelmässig umrissen und besitzt keine oder nur schwache Trabekel. Gleichzeitig können wieder viele Zellen

abgewaschen werden, und die Zellgrösse liegt über der Norm (Braun-Falco et al. [8] , Williams et al. [77]).

Der durch den HSA induzierte Proliferationsschub bewirkt offenbar am 3. Tag Veränderungen an der Epidermisoberfläche. Hier liegt in Abbildung 27 der Gipfel der pathomorphologischen Erscheinungen. Durch die maximal beschleunigte Regeneration ist eine normale Verhornung im Sinne einer regelrechten Ausdifferenzierung nicht mehr möglich.

b) Reizung durch VAS-Applikation

aa) Klinischer Verlauf

Durch die 3 mal tägliche Applikation von 0,1 %iger VAS bildete sich, je nach individueller Reaktion der Probanden innerhalb von 12 - 16 Tagen ein mässiges bis starkes Erythem mit kräftiger, feinlamellöser Schuppung aus. In Abbildung 28 ist der Verlauf der Hauterscheinungen dargestellt.

Nach Absetzen der VAS-Reizung bleibt das Erythem im Durchschnitt noch etwa 7 Tage bestehen, verliert dabei aber kontinuierlich an Intensität. Die mit Corticosteroid behandelten Felder zeigen ein schnelleres Verschwinden des Erythems als die spontan abklingenden Kontrollfelder. Nach 2 - 3 Tagen Steroidbehandlung ist der Unterschied signifikant ($p < 0.05$).

Die Schuppung verschwindet auf den Kontrollfeldern innerhalb von 10 Tagen. Nach 4 Tagen besitzt sie noch die halbe Intensität. Durch die Behandlung mit Corticosteroiden klingt sie bereits nach 4 - 5 Tagen mit einer signifikant kürzeren HWZ von 1 - 2 Tagen ab ($p < 0.01$). Vom 2. bis 5. Tag nach Behandlungsbeginn ist der Grad der Schuppung auf den steroidbehandelten Feldern signifikant geringer ($p < 0.01$). Beta-methason-Dipropionat zeigt eine geringfügig stärkere Wirkung als Betamethason-Valerat.



Abbildung 28:

Klinische Hauterscheinungen bei VAS-Reizung. Dunkle Säulen: ohne Steroidbehandlung; helle Säulen: Behandlung mit Beta-methason-Dipropionat; N=11

Nach dem Rückgang der entzündlichen Hauterscheinungen wird etwa um den 25. Tag der Untersuchung, insbesondere bei stärker pigmentierter Haut, ein Pigmentverlust auf allen mit VAS gereizten Feldern sichtbar (Kligman et al. [40], Plewig [50]). Diese Abblassung nimmt während der Steroid-Behandlung zu und erreicht dadurch eine signifikant grössere Intensität als auf den Kontrollfeldern. Betamethason-Dipropionat ist wirksamer als Betamethason-Valerat.

bb) Morphologische Parameter

Zellumriss

Durch die VAS-Reizung steigt der Anteil der unregelmässig umrissenen Zellen innerhalb von 15 Tagen signifikant von 46 % auf 88 % an ($p < 0.01$). Nach Absetzen von VAS wird der Zellumriss wieder zunehmend regelmässiger. Am Ende des Beobachtungszeitraumes, also 3 Wochen nach den maximalen Veränderungen, entspricht die Häufigkeitsverteilung bezüglich des Zellumrisses wieder den Verhältnissen bei gesunder Haut. Das Verhältnis pentagonaler Zellen zu hexagonalen Zellen beträgt während der gesamten Studie etwa 3 : 2. Ein sicherer Einfluss der Steroidbehandlung auf den Zellumriss nach VAS-Reizung ist nicht nachzuweisen.

Kernstrukturen (Abb.29):

Bei Hautreizung durch VAS erscheinen nach 6 - 8 Tagen die ersten kernresthaltigen Hornzellen an der Oberfläche des Stratum corneum. Nach 15 Tagen enthalten etwa 60 % der Zellen Kerne oder Kerntrümmer. Der Prozentsatz der Zellen mit Kernschatten sinkt dabei von 25 % auf 5 %. Der Anstieg parakeratotischer Zellen und der Abfall kernschattenhaltiger Zellen sind signifikant ($p < 0.01$).

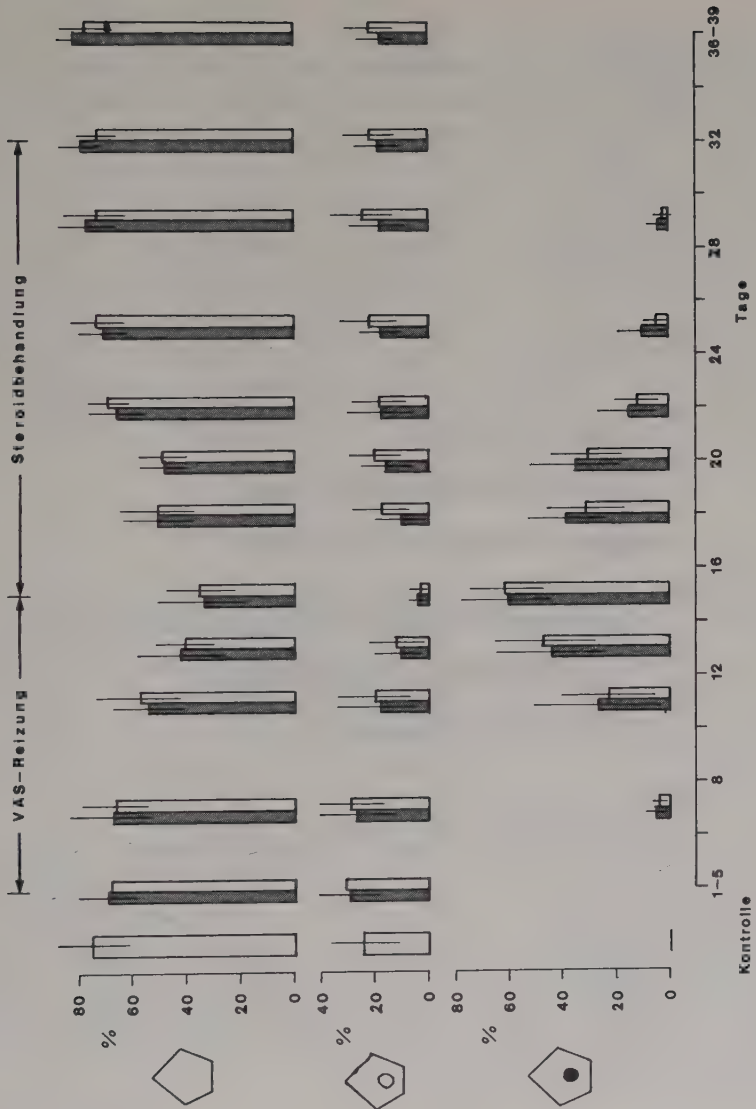


Abbildung 29:

Prozentuale Verteilung der Hornzellen mit und ohne Kernstrukturen sowie mit Kernschatten bei VAS-Reizung. Dunkle Säulen: ohne Steroidbehandlung; helle Säulen: Behandlung mit Betamethason-Dipropionat; Kontrollwerte normaler Haut sind gegenübergestellt. N=11

Die pathologischen Kernererscheinungen bilden sich nach Beendigung der VAS-Applikation rasch zurück. 14 - 17 Tage danach sind die Ausgangswerte von gesunder Haut wieder erreicht.

Eine Behandlung mit Corticosteroiden beschleunigt diese Rückbildung wesentlich. Sie wird 2 - 7 Tage nach Beginn der Behandlung besonders deutlich. Der Prozentsatz der kernhaltigen Zellen liegt dann an den steroidbehandelten Feldern signifikant niedriger als an den spontan abklingenden Kontrollfeldern ($p < 0.05$). Auch die HWZ der Kernstrukturen wird durch die Behandlung von 3,9 auf 2,8 Tage signifikant verkürzt ($p < 0.01$).

Trabekelstrukturen (Abb.30):

Analog dem Verhalten von Umriss und Kernstrukturen steigt auch der Anteil der Hornzellen mit ungeordneten und schwachen oder fehlenden Trabekelnetzwerken durch die VAS-Reizung signifikant an ($p < 0.01$). Bei einem Ausgangswert von unter 10 % zeigen nach 15 Tagen über 90 % der Zellen abnorme Trabekel. Nach Absetzen der VAS erreichen die Werte exponentiell nach etwa 20 Tagen wieder die Norm.

Die Corticosteroid-Behandlung bewirkt eine wesentlich schnellere Normalisierung der Trabekelstrukturen. In der ersten Behandlungswoche ist der Prozentsatz der Zellen mit pathologischem Trabekelverhalten an den behandelten Hautfeldern signifikant niedriger ($p < 0.05$). Die Zeit, nach der die pathologischen Erscheinungen zur Hälfte abgeklungen sind, ist an den behandelten Feldern ebenfalls von 4,8 auf 3,6 Tage signifikant verkürzt ($p < 0.01$).

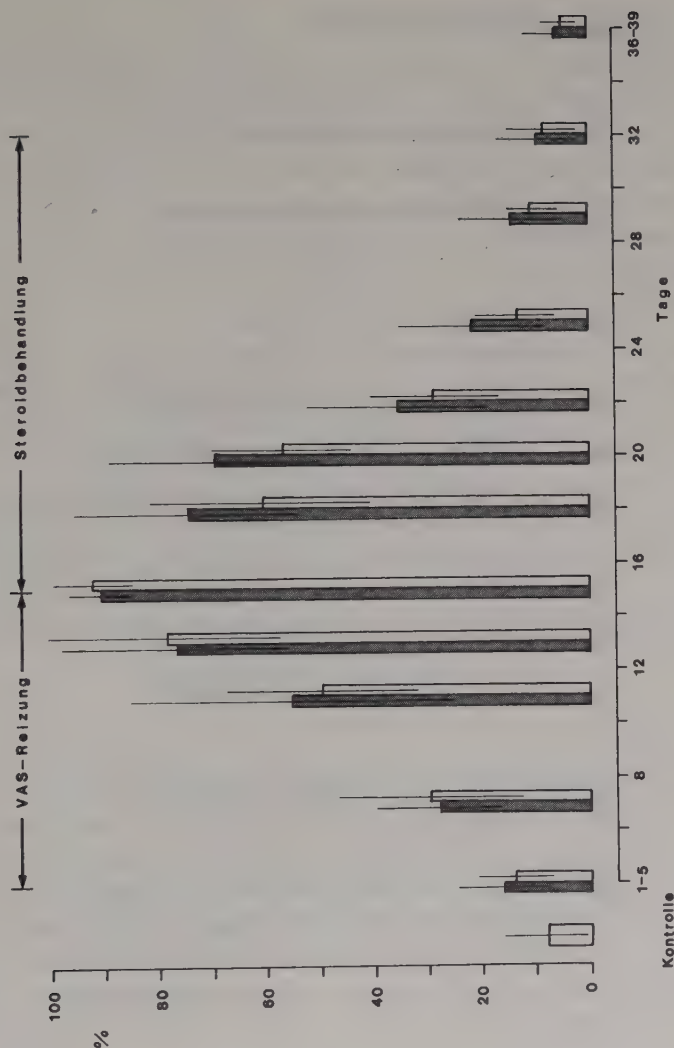


Abbildung 30:

Prozentsatz der Hornzellen mit schwach ausgebildeten, ungeordneten oder fehlenden Trabekelstrukturen bei VAS-Reizung. Dunkle Säulen: ohne Steroidbehandlung; helle Säulen: Behandlung mit Betamethason-Dipropionat; der Kontrollwert normaler Haut ist gegenübergestellt. N=11

Zellzählung

Bedingt durch die VAS-Reizung steigt die Zellzahl ausgehend von $60.000/\text{cm}^2$ vom 10. - 15. Tag zunehmend auf etwa das Doppelte an. Dieser Anstieg ist signifikant ($p < 0.01$). Er erfolgt synchron mit dem Auftreten der Schuppung. Nach Beendigung der VAS-Reizung zeigt sich noch für 2 bis 3 Tage eine weitere, überschüssende Erhöhung der Zellzahl auf annähernd 170.000 Zellen pro cm^2 . Sie fällt dann steil ab und erreicht 7 Tage später die Ausgangswerte.

An den mit Steroiden behandelten Versuchsfeldern fehlt der überschüssende Anstieg der Zellzahlen nach Absetzen der VAS-Reizung. Die Werte bleiben zunächst hoch, fallen dann aber rapide innerhalb 3 bis 4 Tagen auf die Werte der gesunden Haut ab. Vergleicht man die Zeiten, nach denen die maximalen Werte zur Hälfte abgeklungen sind, so ergibt sich durch die Steroidbehandlung eine signifikante Verkürzung von 3,2 auf 2,6 Tage ($p < 0.05$). Betamethason-Dipropionat besitzt eine geringfügig stärkere Wirkung als Betamethason-Valerat.

Zellfläche

Wie bereits auf Seite 53 erwähnt, wurden auf Grund der regionalen Grössenunterschiede der Hornzellen in den verschiedenen Versuchsfeldern die Zellflächen auf die Zellgrösse des mittleren Feldes bezogen. Die so korrigierten Messwerte sind in Abbildung 34 dargestellt. Die Säulen entsprechen den Messwerten von einem Probanden. Am 15., 22. und 32. bis 35. Tag der Untersuchung sind die Werte aller Versuchspersonen gemittelt eingezeichnet.

Durch die VAS-Reizung werden die Hornzellen um 5 bis 10 % vergrössert. Das im weiteren Verlauf als Kontrollfeld benutzte Versuchsfeld erreicht relativ höhere Werte, als die beiden anderen. Ausgehend von den durch VAS-Reizung erhöhten Zellflächen sinken die Werte nach der Reizung kontinuierlich ab. Gegen Ende des Beobachtungszeitraumes sind die

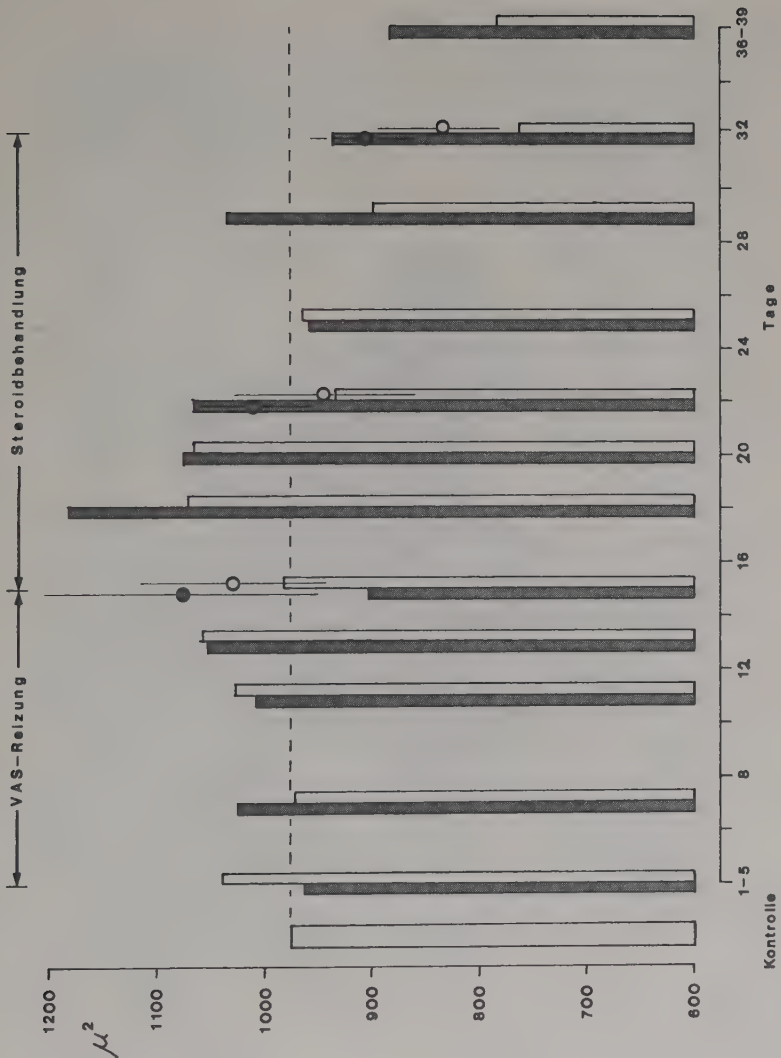


Abbildung 31:

Veränderung der Hornzell-Fläche während VAS-Reizung. Dunkle Säulen: ohne Steroidbehandlung; helle Säulen: Behandlung mit Betamethason-Dipropionat; Kreise: Mittelwerte von 11 Probanden; die Zellgröße normaler Rückenhaut ist als Kontrollwert angegeben. Nähere Erläuterungen im Text (S. 64)

Zellen deutlich kleiner als die Vergleichszellen von gesunder Haut.

Durch die Corticosteroid-Behandlung wird die Fläche der Hornzellen noch zusätzlich um 2 - 3 % verringert. Diese, wenn auch geringe Grössendifferenz, ist statistisch sichergestellt ($p < 0.01$).

E. DISKUSSION DER ERGEBNISSE

I. Physiologische und pathologische Hornzellmorphologie

1. Die morphologischen Kriterien und ihre Entstehungsbedingungen:

Hornzellen von der Oberfläche gesunder Rückenhaut sind etwa zur Hälfte regelmässig polygonal konturiert (Abb.3,4). Es überwiegen die pentagonalen Zellen im Verhältnis 3 : 2 über die hexagonalen. Dieses Verhältnis bleibt auch dann bestehen, wenn bei entzündlich veränderter Epidermis nur noch wenige Zellen regelmässige Umrisse zeigen. Die andere Hälfte wird durch unregelmässig polyedrische Formen repräsentiert (Abb 5).

Fast alle Zellen enthalten deutliche, übersichtliche Trabekelstrukturen (Abb.3,4,5). Bei regelmässig begrenzten Corneozysten sind die Trabekel vorwiegend parallel zum Umriss angeordnet (Abb.3,4). Die Trabekelstrukturen entstehen durch dachziegelartige Überlappung der Hornzellen. Jede Zelle wird von 5 - 6 Nachbarn teilweise überdeckt (Christophers [13,16,17], Keddle u.Sandi [38]) Der Rand einer jeden Zelle hinterlässt dabei auf der darüber oder darunterliegenden Zelle eine Linie, vielleicht in Gestalt einer kammartigen Erhebung, die stärker anfärbbar ist und als Trabekel imponiert. Abbildung 32 verdeutlicht diesen Sachverhalt.

Die abgebildeten Zellen wurden ebenfalls durch die Detergens-Technik gewonnen. Sie haben jedoch ihren Zusammenhalt nicht

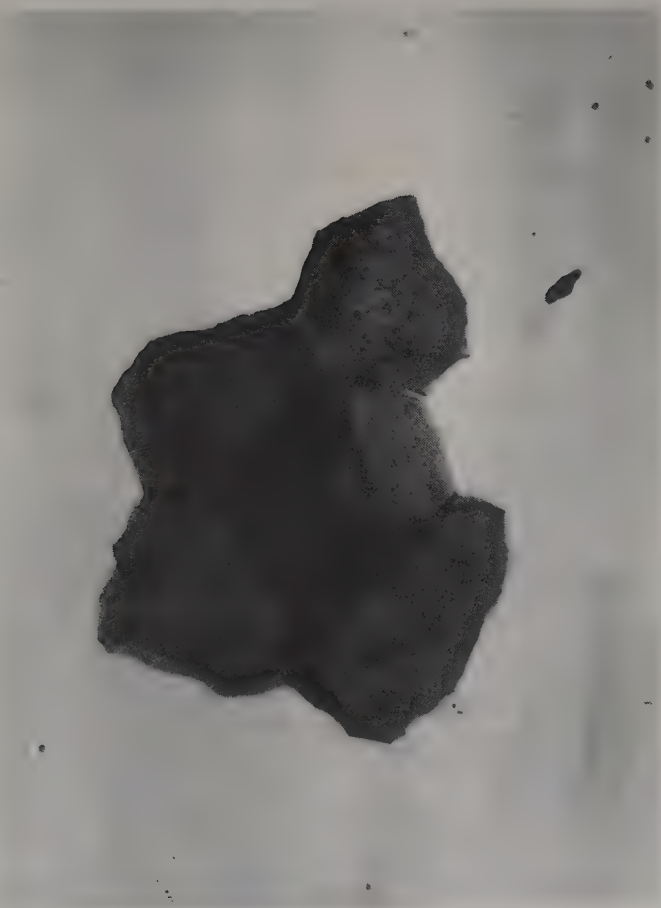


Abbildung 32:

Corneozyten von gesunder Rückenhaul in ihrer ursprünglichen Anordnung; der Rand einer jeden Zelle hinterlässt Trabekelstrukturen in der Nachbarzelle. Vergrößerung 950 : 1.

verloren, sondern stellen sich in ihrer ursprünglich in der Hornschicht vorhandenen Gruppierung dar. Die zentrale Zelle ist von 4 Nachbarzellen teilweise überdeckt. Man erkennt deutlich, daß der Rand eines jeden Corneozyten auf der Nachbarzelle eine Trabekelstruktur hinterlässt. Rechts ist eine Zelle aus dem Verband gelöst worden. Ihre Lage

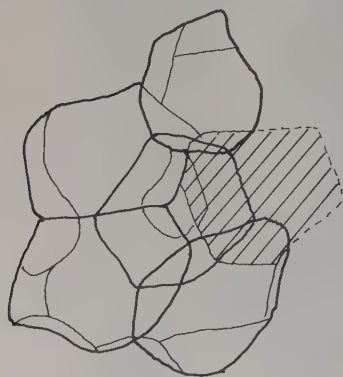
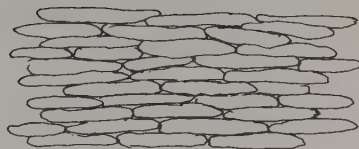
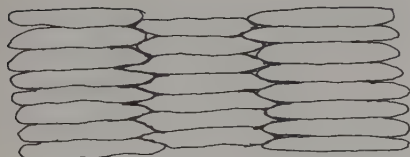
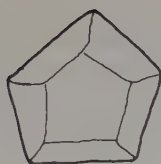


Abbildung 33:
Rekonstruktion der fünften
Nachbarzelle (schraffiert)
aus den Trabekelstrukturen
(vgl. Abb. 33)

kann durch den Abdruck auf den verbliebenen Zellen rekonstruiert werden, wie dies die Abbildung 33 zeigt. Die Trabekelzüge bleiben nicht auf eine Zelle beschränkt, sondern sie setzen sich über die Zellgrenzen hinweg fort und formen ein netzartiges System, das den übereinanderprojizierten Zellumrissen entspricht. Die Untersuchungen von Christophers mit der Fluorescein-Isothiocyanat-Methode [13,16,17] und neuere Befunde von Christophers et al. [23] zeigen, dass die ungestört und normal verhornende Epidermis im Stratum corneum eine säulenartige Anordnung der Zellen

besitzt, die sich auf 2 bis 3 Zellagen subcorneal fortsetzt. Ein Befund, den auch Wolf [80] schon 1940 andeutete. Diese regelmässige Übereinanderlagerung und Verzahnung mit den Nachbarsäulen bedingt polyedrische Zellumrisse und damit auch regelmässige Trabekelstrukturen. Abbildung 34 verdeutlicht dieses "stacking"-Prinzip.



stacking: Die säulenförmige Anordnung bedingt regelmässige Zellumrisse und geordnete Trabekelstrukturen

kein stacking: Die regellose Anordnung verhindert die Ausbildung geordneter Zellstrukturen

Abbildung 34:

Schematische Darstellung des Zusammenhangs zwischen Kolumnärstruktur des Stratum corneums (stacking) und Hornzellmorphologie.

Nach dem von Bonnani 1681 formulierten allgemeinen Prinzip der Biologie (zitiert nach [16]) entstehen durch gleichseitigen Druck auf gleichförmige Körper im Idealfall hexagonale Strukturen. Dies entspricht dem Befund, daß in normaler Hornschicht die polygonalen Zellen überwiegen. Allerdings entstehen offenbar bevorzugt pentagonale Zellen.

Regelmässiger Umriss und geordnete Trabekel bilden sich erst während der Wanderung der Zellen durch das Stratum corneum aus. Zellen aus tieferen Lagen der Hornschicht zeigen nur wenige geordnete Strukturen (vgl. Zellmorphologie unmittelbar nach HSA). Eine Störung der Zellordnung hat den Verlust regelmässiger Zellumrisse und Trabekelnetzwerke zur Folge.

Christophers [12,14,16] und Christophers et al.[23] konnten zeigen, daß Verletzungen der Epidermis oder gesteigerte Proliferation und beschleunigter Zellumsatz, sowie zunehmende Dicke der Hornschicht die Kolumnärstruktur zerstören. Das Auftreten überwiegend unregelmässig geformter Zellen mit undeutlichen oder fehlenden Trabekelstrukturen bei Ekzem und experimenteller Dermatitis durch HSA oder VAS-Reizung, lässt sich so durch erhöhte mitotische Aktivität und dadurch bedingten Verlust der regelrechten Zellordnung zwanglos einordnen.

Die erwähnten Befunde, dass der Zellumriss bei Ekzem, VAS-Reizung und HSA sowie die Trabekelstrukturen bei HSA im Vergleich zu den übrigen klinischen und morphologischen Parametern verzögert wieder die Normwerte erreichen machen deutlich, dass der Wiederaufbau eines geordneten Stratum corneum längere Zeit in Anspruch nimmt, als die Wiederherstellung des regelrechten Verhornungsvorganges. Den vorliegenden Befunden nach sind dazu etwa 25 Tage notwendig. Dies entspricht bei einer Erneuerungszeit des Stratum corneum am Rücken von 14 - 18 Tagen [60,73,25,1,3] etwa 1 bis 2 normal verlaufenden Mauserungsraten im Anschluss an den beschleunigten Proliferationsschub.

Die oberflächliche Hornschicht gesunder Rückenhaut enthält keine Zellen mit soliden Kernen oder Kerntrümmern. In durchschnittlich 25 % ($\pm 12\%$) besitzen Corneozyten aber Kernschatten. Die erscheinungsfreie Haut bei Ekzematikern enthält knapp 40 % ($\pm 14\%$) Kernschatten. Auch Zellumrisse und Trabekelstrukturen sind hier in einem höheren Masse ungeordnet als bei der Gruppe freiwilliger Probanden. Es ist überlegenswert, ob sich mit dem gehäuften Vorkommen von Kernschatten und ungeordneten Zellstrukturen in der Hornschicht eine Ekzemeigung verknüpft. Dem widerspricht allerdings die Tatsache, dass bei manifestem Ekzem und florider artifizieller Dermatitis der prozentuale Anteil an kernschattenhaltigen Hornzellen deutlich vermindert ist und eine Vermehrung der Zellen mit Kernschatten als ein Indiz

für das Abklingen der pathologischen Erscheinungen gewertet werden kann. Dies wird auch durch den Befund von Braun-Falco et al. [9] gestützt, der in der Hornschicht bei psoriatischer Hautreaktion nach Steroid-Behandlung vermehrt kernschattenhaltige Zellen nachwies.

Hornzellen von entzündlich veränderter Epidermis enthalten als Ausdruck der parakeratotischen Verhornungsstörung Kerne oder Kerntrümmer. Je ausgeprägter die Parakeratose und die damit verbundenen klinischen und morphologischen Erscheinungen sind, umso mehr treten die soliden blau gefärbten Kerne gegenüber den lockeren rot gefärbten oder den Kerntrümmern in den Vordergrund. Beim Abklingen der krankhaften Erscheinungen sind noch lockere rote Kerne, später nur noch Kernreste in den Hornzellen der oberen Schichten nachweisbar.

Parallel zu diesem Zerfall der Zellkerne erscheinen vakuolige, runde oder ovale Aufhellungen von $1 - 3\mu$ Durchmesser im Zytoplasma. Hanusova [33] hat dies 1961 als parakeratotische Lipoidgranula beschrieben. Die grössten dieser Granula finden sich an der Stelle des früheren Zellkerns, nach peripher nehmen sie an Grösse ab (Vgl. Abb.8,35). Sie treten nur in Zellen auf, deren Kern in der Auflösung begriffen ist, am eindrucksvollsten bei Zellen mit lockeren rötlichen Kernen. Zellen mit gut erhaltenen blauen Kernen mit Kerntrümmern oder Kernschatten enthalten keine Lipoidgranula.

Sehr grosse, intrazytoplasmatische Lipoidvakuolen sind neuerdings in Hornzellen von Comedonen während der Lokalbehandlung mit VAS elektronenoptisch gesehen worden (persönliche Mitteilungen H.H.Wolff, G. Plewig, München). Die Bedeutung der Lipoidgranula ist unklar. Orfanos [44] beschreibt sie insbesondere bei Psoriasis als Lipoidkörper, die in das Keratin nicht eingebaut werden können und daher im Zytoplasma liegen bleiben. Bei normaler Funktion der Zelle sollen sie als

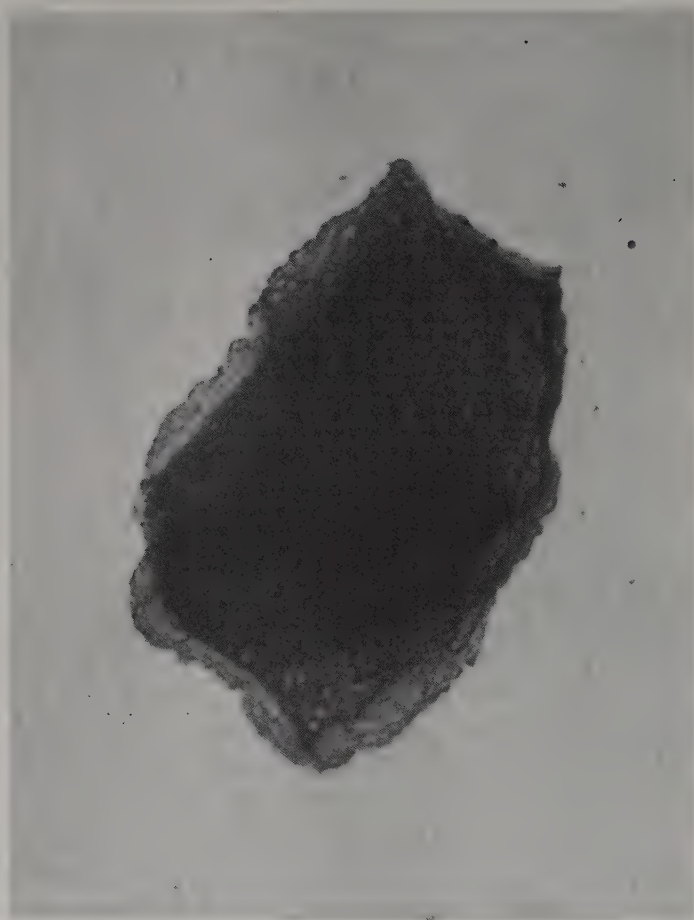


Abbildung 35:

Unregelmäßig begrenzte Hornzelle ohne Trabekelstruktur; zahlreiche, große, parakeratotische Lipoidgranula an der Stelle des früheren Zellkerns, nach peripher an Größe abnehmend; Rücken, 4 Tage nach HSA; Vergr. 2400:1

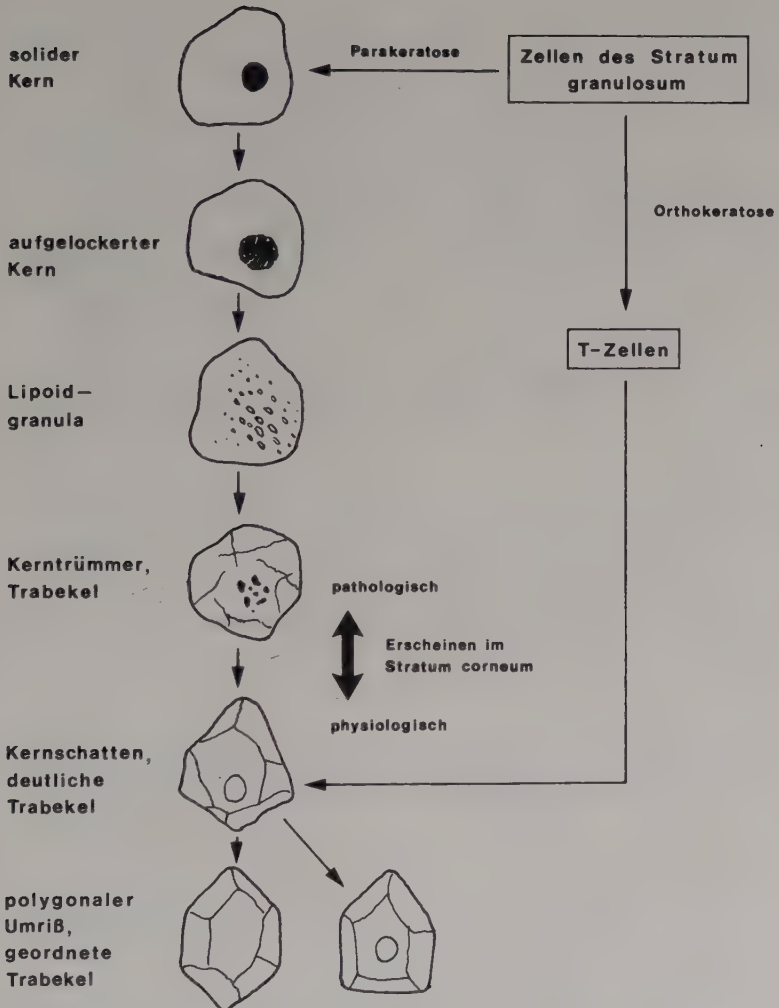


Abbildung 36:

Morphologische Phasenfolge bei der ortho- und parakeratotischen Ausdifferenzierung der Corneozyten

Keratin - "Weichmacher" wirken. Psoriatische Hornzellen sind z.B. weniger elastisch als die Hornzellen gesunder Epidermis.

Die Fülle der unterschiedlichen Ausprägungen der besprochenen morphologischen Parameter lässt sich ordnen, wenn der Verhornungsvorgang phasenhaft dargestellt wird. In Abbildung 36 ist dem normalen Keratinisierungsprozess die parakeratotische Verhornung gegenübergestellt. Die einzig faßbare, physiologische Zwischenstufe der Epidermiszellen auf dem Wege vom Stratum granulosum zur Hornschicht ist die "transitional-cell" oder T-Zelle (Brody [10], Orfanos [44], Kligman [39]). Sie bildet nur eine flüchtige Übergangsstufe während der Verhornung und formt keine selbständige Zellschicht. Morphologisch ist sie besonders elektronenmikroskopisch durch eine scharfe, deutliche Zellmembran ausgezeichnet.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie machen für die parakeratotische Verhornung eine Phasenfolge wahrscheinlich wie sie Abbildung 36 zeigt. Zunächst wird der Kern aufgelockert, mit der hier angewandten Färbung erscheint er dann rot. Bei der weiteren Karyolyse werden zahlreiche Lipoidgranula sichtbar. Der Kernzerfall wird durch die Bildung von Kernschatten vollendet. Hier mündet auch der orthokeratotische Differenzierungsvorgang ein. Es formen sich nun zunehmend deutliche Trabekelnetzwerke. Viele Corneozyten nehmen dann noch, wenn es die Zellordnung in der Hornschicht gestattet, die endgültige, polyedrische Form ein.

3. Vergleich der Hornzellmorphologie bei Ekzem und experimenteller Dermatitis:

Bei den Untersuchungen an Ekzempatienten handelte es sich in der Mehrzahl der Fälle um kontaktallergische Dermatitis. Die artefizielle Hautreizung durch HSA oder VAS-Applikation kann als obligat-toxische Dermatitis eingeordnet werden. Trotz der verschiedenen auslösenden Ursachen können an Hand der Zellmorphologie mit Ausnahme der Zellfläche keine

qualitativen Unterschiede festgestellt werden. Es zeigen sich lediglich quantitative Abstufungen, die mit dem Grad der entzündlichen Reaktion korreliert sind.

Das Verhalten der Zellflächen unter den verschiedenen Versuchsbedingungen war jedoch unterschiedlich.

-Bei HSA zeigte sich im Anschluss an eine flüchtige Zellvergrößerung ein wellenförmiger Verlauf der Zellflächen. Dabei traten 2 Phasen mit deutlicher Verkleinerung der Hornzellen hervor.

-Die VAS-Reizung vergrößerte zunächst die Hornzellen. Dann aber wurden die Zellen zunehmend kleiner und die Zellfläche fiel unter die Normwerte ab.

-Ekzemzellen waren im Durchschnitt kleiner als entsprechende Hornzellen von gesunder Haut.

Diese verschiedenen Befunde lassen sich bei zellkinetischer Betrachtungsweise der einzelnen Versuchsabläufe gut einordnen.

Die folgenden Abschnitte sollen dies näher erläutern.

II. Betrachtung der epidermalen Regenerationsdynamik

1. Detergens-Technik und physiologischer Hornzellverlust:
Mit der Detergens-Technik wurden von gesunder Epidermis bei einem Waschvorgang mit 40 sec Dauer 40 - 55 % der obersten Zellschicht entfernt. Dies lässt sich leicht aus der Anzahl der gewonnenen Zellen pro cm^2 Hautoberfläche und der durchschnittlichen Zellgrösse berechnen. Es muss allerdings noch berücksichtigt werden, dass die Zellen sich teilweise überlappen. Durch planimetrische Zellmessungen wurde eine Überdeckung der Zellen von 50 % bestimmt. D.h. die Hälfte einer jeden Hornzelle wird von Nachbarzellen überlagert. Somit sind in jeder Zellschicht nur 50 % der Fläche einschichtig,

der andere Teil zwei- oder mehrschichtig angelegt. Würde man die Hornzellen einer Zellage von 1cm^2 Fläche einzeln ausmessen und diese Einzelflächen addieren, so ergäbe sich eine Gesamtfläche von $1,5\text{ cm}^2$. Umgekehrt muss also die Summe der Einzelflächen um $1/3$ verringert werden, um die tatsächliche Deckungsfläche einer Zellschicht zu erhalten. In Tabelle 5 ist auf diese Weise der Prozentsatz der Hornzellen berechnet worden, der mit der Detergens-Technik von der obersten Schicht des Stratum corneum abgelöst werden konnte. Die Werte für die wichtigsten Versuchsabschnitte sind angegeben.

Tabelle 5:

Prozentsatz der von der oberflächlichsten Schicht des Stratum corneum abgewaschenen Zellen. Bei Ekzemherden wurden auch noch 15 % der Hornzellen aus der 2. Hornzellschicht entfernt. Kontrollwerte von gesunder Epidermis: 40 - 55 %

Ekzem N = 18	akuter Ekzemherd 100% + 15% aus 2. Schicht	nach 10-20 Tagen Steroidbeh. 40%
VAS-Reizung N = 22	nach VAS-Reizung über 14 Tage 90%	nach 20 Tagen Steroidbeh. 30%
HSA N = 22	unmittelbar n.HSA 6%	5 Tage n.HSA 50%
		nach 20 Tagen Steroidbeh. 30%

Man sieht, daß von Ekzemherden wenig mehr als eine Hornzellschicht entfernt wird. Unter den anderen Versuchsbedingungen werden ausschliesslich Zellen der oberflächlichsten Schicht abgewaschen. Unmittelbar nach HSA beträgt der Prozentsatz sogar nur noch 6 %.

Der normale Zellverlust durch Abschilferung beträgt im Gegensatz dazu täglich etwa 1 - 1,5 Zellschichten. Dieser Befund stützt sich auf Messungen der Erneuerungszeit der menschlichen Epidermis und auf die Anzahl der Zellschichten im Stratum corneum. Die Mauserungsrate der Epidermis wurde 1961 von Rothberg et al. [60] durch autoradiographische Methoden mit 26 bis 28 Tage bestimmt. Davon entfallen 12 bis 15 Tage auf die Basal-, Stachel-, und Körnerzellschicht. Der turnover der Hornschicht beträgt 13 bis 14 Tage. Ähnliche Messungen anderer Autoren (Weinstein u. van Scott [73], Epstein und Maibach [25]) bestätigten diese Ergebnisse. Baker und Kligman [3], sowie Baker und Blair [1] ermittelten mit einer Fluoreszenz-Farbstoff-Methode vergleichbare Werte. Sie fanden eine Erneuerungszeit des Stratum corneum am Rücken von etwa 15 Tagen.

Die Schichtdicke des Stratum corneum wird von Flewig [50] am Rücken mit 18, von Christophers et al. [22] mit 15 und von Hunter et al. [35] mit 5 - 12 angegeben. Nimmt man 15 - 20 Zellschichten am Rücken an, dies korrespondiert gut mit dem Befund, dass 20 - 30 Klebstreifenabrisse erforderlich waren, um die gesamte Hornschicht zu entfernen, so ergibt sich ein täglicher Zellverlust von 1 - 1,5 Zellagen. Die Anzahl der, durch die Detergens-Lösung entfernten Zellen, liegt damit wesentlich unter der physiologischen Abschilferung. Es darf also sicher angenommen werden, dass durch die experimentelle Zellgewinnung im Abstand von 2 - 4 Tagen kein zusätzlicher Proliferationsstimulus gesetzt wird und der Abwaschvorgang selbst keinen Eingriff in die Wachstumsdynamik

der Epidermis darstellt.

2. Epidermale Regenerationsdynamik nach Hornschichtabriss:
Nach einem Intervall von 72 Std nach HSA zeigen sich an der Hautoberfläche Anzeichen eines massiven Proliferationsschubes. Die Zahl der abgewaschenen Zellen steigt steil an; es entsteht eine mässige bis starke, feinlamellöse Schuppung. Gleichzeitig ist die Morphologie der Hornzellen stark pathologisch. Gehäuft erscheinen unregelmässige Zellumrisse und ungeordnete Trabekelstrukturen, viele Zellen enthalten Kerne oder Kernreste (vgl. Abb. 27). Schuppung und parakeratotische Zellen nehmen dann schnell ab und sind 6 - 7 Tage nach ihrem Erscheinen weitgehend verschwunden.

Seit den Stripping-Versuchen von Pinkus 1951 [45] und 1952 [46] wurde auch von mehreren anderen Autoren beim Menschen (Braun-Falco et al. [8], Williams et al. [77] und am Meerschweinchen (Christophers u. Braun-Falco [20], Christophers [15]) eine sehr starke mitotische Aktivität als Epidermisreaktion nach HSA gefunden. Dies erscheint verständlich, da eine ausgeprägte Regenerationsfähigkeit der Epidermis unerlässlich zur Aufrechterhaltung ihrer Funktion ist.

Die schnelle Erneuerung der Hornschicht nach ihrer Entfernung durch HSA wird von einer parakeratotischen Verhornungsstörung begleitet. Zur Frage ihrer Ursache können mehrere Überlegungen angestellt werden. Zunächst wird, bei einer Bilanzierung der bisher bekannten zeitlichen Aufeinanderfolge der Regenerationsvorgänge klar, dass die 72 Stunden nach HSA von der Hautoberfläche gewonnenen parakeratotischen Zellen nicht aus durch HSA induzierten Mitosen der Basalzellen hervorgehen, sondern sich zu diesem Zeitpunkt schon im mittleren bis oberen Stratum spinosum befinden müssen. Das heisst, daß primär ungeschädigte Zellen im weiteren Verlauf einer fehlerhaften Ausdifferenzierung unterliegen. Dies kann grundsätzlich auf zweierlei Weise geschehen.

1. Das für eine regelrechte Verhornung massgebliche Stratum granulosum wurde durch HSA ebenfalls geschädigt. Die dadurch

veränderten Stoffwechselbedingungen rufen eine Verhornungsstörung hervor (Christophers u. Braun-Falco [20]). In diesem Falle müsste, bei der hier angewandten Detergens-Technik, der Gipfel der pathomorphologischen Zellveränderungen früher liegen und dürfte nicht erst nach 72 Std. auftreten. Allerdings zeigen neuere, experimentelle Ergebnisse (Hojyo-Tomoka und Kligman [34]), dass durch HSA niemals alle Hornzellagen entfernt werden. Es ist also durchaus möglich, daß das Stratum granulosum nicht irritiert wurde, oder eine Schädigung nur verzögert eintrat.

2. Durch den mechanischen Reiz wird ein Proliferationsschub ausgelöst, der einen beschleunigten Zellstrom durch die keratogene Zone bedingt, so daß die erforderliche minimale Reifungszeit unterschritten wird. Diese Überlegung wird durch folgende Befunde gestützt.

Für die Mitoseaktivität nach HSA wurde von Braun-Falco et al. [8] und Williams et al. [77] nach einer anfänglichen mitosearmen Phase nach 40 - 48 Stunden ein Gipfel beschrieben. Dies stimmt auch mit der von Christophers und Braun-Falco [20] beim Meerschweinchen gefundenen 30-stündigen Latenzzeit vor dem Einsetzen der DNS-Synthese überein. Während dieser knapp 2 Tage wird die normale Proliferation und Differenzierung der Epidermis mit einer Mauserungsrate des Stratum Malphigi von 11 - 13 Tagen [25,73] fortgesetzt. An der Hornschichtoberfläche können deshalb 48 Stunden nach HSA keine parakeratotischen Zellen gefunden werden. Anschliessend beginnt, ausgelöst durch die starke mitotische Aktivität in den basalen Zellagen, eine wesentlich beschleunigte periphere Zellwanderung. Die Transitzeit durch das Stratum Malphigi wird dabei auf 2 - 3 Tage verkürzt. Diese Zeit wurde von Christophers und Braun-Falco [20] am Meerschweinchen gefunden. Sie stimmt gut mit dem Ergebnis anderer Autoren überein, die beim Menschen bei VAS-Reizung [19,50,55], Psoriasis [8,73,60,72] oder anderen schuppenden Dermatosen [29] ähnliche Werte ermittelten. Bei diesem ausserordentlich beschleunigten Zellumsatz wird offenbar, die minimale Reifungszeit der Epidermiszellen unter-

schritten und diese gelangen unvollständig verhornt ins Stratum corneum. Hier erscheinen sie etwa 2 - 3 Tage nach HSA. Da sie aber von regelrecht verhornten Corneozyten, die anfangs weiterhin gebildet wurden, bedeckt sind, können sie noch nicht an der Oberfläche nachgewiesen werden. Die natürliche Abschlüpfung, verstärkt durch beschleunigte Proliferation und die mechanisch geringere Widerstandsfähigkeit der parakeratotischen Hornschicht bedingen das Auftreten der Schuppung und es werden nun parakeratotische Hornzellen sichtbar.

Der plötzliche Anstieg der pathomorphologischen Parameter auf initial maximale Werte wird durch die synchron einsetzende Zellproliferation und die bandförmige Aufwärtsbewegung (Christophers [19]) hervorgerufen.

Das beschleunigte Zellwachstum hält etwa 60 Std an. Christophers und Braun-Falco [20] konnten dabei an der Epidermis des Meerschweinchenohres zwei DNS-Synthesewellen verfolgen. Dadurch wird praktisch innerhalb von 4 - 5 Tagen das gesamte Stratum Malpighi erneuert. In der selben Zeit entsteht ein neues, aber regelwidrig verhorntes Stratum corneum. Es wird in den folgenden 20 Tagen durch eine orthokeratotische Hornschicht ersetzt. Die Dynamik dieses Zellverlustes ist in Abbildung 37 an Hand der Anzahl kernhaltiger Zellen pro cm^2 Hautfläche dargestellt. Der exponentielle Abfall bildet sich hier durch den semilogarithmischen Massstab in zwei Geradenabschnitten ab. Am 8. Tag nach HSA entsteht ein scharfer Knick. Hier sistiert die Schuppung (vgl. Abb.27) und der weitere Zellverlust ist nur noch durch physiologische Abschlüpfung bedingt.

Die exponentielle Verminderung der parakeratotischen Zellen legt den Schluss nahe, daß sie nicht nur durch die Zellerneuerung aus der Hornschicht von nachfolgenden orthokeratotischen Zellen verdrängt werden, sondern, daß

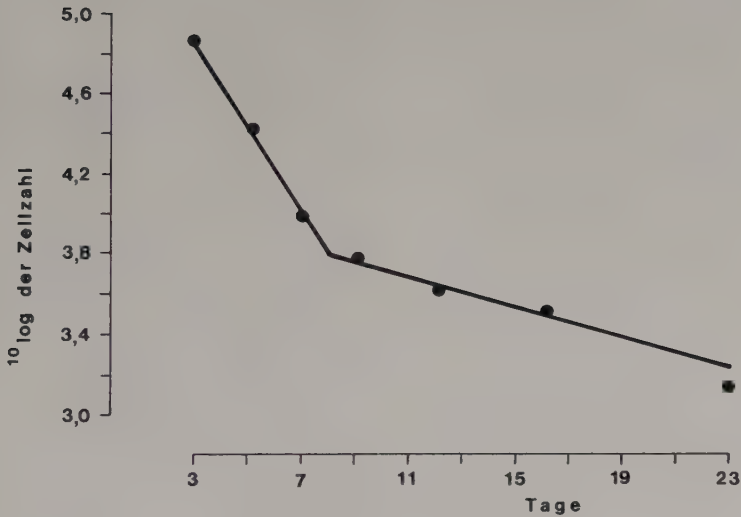


Abbildung 37:

Anzahl parakeratotischer Zellen pro cm^2 Hautfläche nach HSA;
semilog. Massstab Mittelwerte von 11 Probanden

zusätzliche katabole Vorgänge stattfinden, die einen Kernzerfall innerhalb des Stratum corneum zur Folge haben. Braun-Falco [6] zeigte grosse histochemische und histologische Parallelen zwischen parakeratotischer Hornschicht und Intermediärzone der normalen Haut auf. Braun-Falco und Christophers [7] fanden in der Hornschicht des Meerschweinchens nach VAS-Applikation eine vermehrte Aktivität

von hydrolytischen Enzymen wie sie normalerweise in der keratogenen Zone vorkommt. Auch dies ist ein Hinweis auf den Kernabbau innerhalb des parakeratotischen Stratum corneum.

3. Epidermopoese bei VAS-Reizung:

Durch die täglich dreimalige Applikation von 0,1 %iger VAS zeigen sich entsprechend den klinischen Befunden nach etwa einer Woche erste zellmorphologische Veränderungen, die kontinuierlich zunehmen. Ein sprunghaftes Ansteigen wie nach HSA kann nicht festgestellt werden, womit sich auch kein Anhalt für eine Synchronisation der Mitoseaktivität findet. Nach durchschnittlich 15 Tagen wurde die VAS-Reizung abgebrochen, da nun die beobachteten Untersuchungsparameter die erwünschten, stark pathologischen Werte angenommen haben. In den folgenden 10 - 14 Tagen bilden sich alle Veränderungen relativ rasch zurück. Trabekelnetzwerke und Zellumrisse folgen dieser Entwicklung, wie schon beschrieben, verzögert. Dieser Ablauf der Epidermisreaktion auf VAS-Applikation entspricht den von verschiedenen Autoren an Hand histologischer, histochemischer und autoradiographischer Untersuchungen gefundenen Beobachtungen.

Es werden als Zeichen einer gesteigerten Epidermopoese eine Proliferationsakanthose [7,21,18,40,50,59,19] mit psoriasiformer Papillomatose [7] und Granulose [40,50] beschrieben. Hohe Dosen von VAS, 0,5 % bis 1 %, bewirken nach den Ergebnissen von Plewig [55] einen Verlust des Stratum granulosum. Die Transitzeit von Basalzellschicht

bis unterster Hornschicht wurde von Plewig [50] und Plewig und Fulton [55] auf 3 bis 4 Tage verkürzt angegeben. Christophers [19] fand am Meerschweinchen vergleichbare Werte. Neben dieser Proliferationssteigerung wird für die sich vorübergehend einstellende Parakeratose [7,21,40,50, 54,59,19] eine zusätzliche Differenzierungshemmung verantwortlich gemacht. Dieser Befund stützt sich auf Untersuchungen von Wolff et al. [81] an der Meerschweinchenepidermis, die von Plewig et al. [59] beim Menschen bestätigt werden konnten.

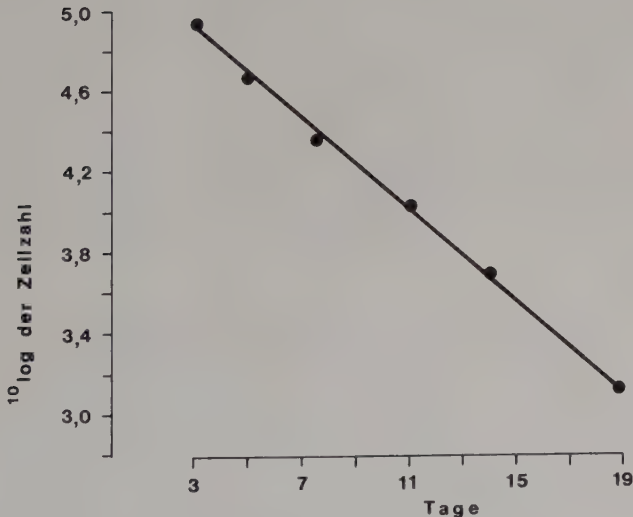


Abbildung 38:

Anzahl parakeratotischer Zellen pro cm^2 Hautfläche nach VAS-Reizung; semolog. Massstab; Mittelwerte von 11 Probanden

Nach einiger Zeit stellt sich auf einem beschleunigten Niveau ein neues epidermopoetisches Gleichgewicht ein. Die Verhornung ist wieder orthokeratotisch, das Stratum corneum ist aber dabei auf wenige, inkohärente Zellschichten beschränkt [40,50,54,55]. Dieses Gleichgewicht zwischen Zellneubildung und Zellverlust kam bei der vorliegenden Untersuchung nicht zur Auswirkung, da auf dem Höhepunkt der Zellproliferation und Differenzierungsstörung die Reizung beendet und die Rückbildung der Veränderungen beobachtet wurde.

Dabei war, ebenso wie nach HSA, die exponentielle Charakteristik der Abnahme der parakeratotischen Zellen auffällig. In Abbildung 38 ist dies in semilogarithmischem Massstab dargestellt. Die Gerade weist etwa die gleiche Steigung auf wie jene, im ersten Abschnitt nach HSA. Ein plötzliches Abflachen ist nicht zu finden. Dies stimmt mit dem Befund überein, daß mit dem Sistieren der Schuppung auch die kernhaltigen Zellen verschwinden und somit die verlangsamte Phase des physiologischen Zellverlustes nicht mehr dargestellt wird. Eine Stoffwechselaktivität im Sinne eines Kernabbaues im Stratum corneum scheint also auch hier eine Rolle zu spielen.

4. Einfluss der Epidermopoese auf die Zellfläche:

Der Verlauf der Zellfläche nach HSA wurde in Abschnitt D, II, 2, bb Seite 53 als zweigipfelig, wellenförmig beschrieben. Dieses schwingungsartige Pendeln um den Ausgangswert könnte ebenso, wie das plötzliche Erscheinen pathologischer Zellformen, durch die hohe Synchronisation der Mitoseaktivität über mehrere Zellzyklen und die gleichzeitige, bandförmige Aufwärtswanderung der postmitotischen Zellen verursacht sein. Der annähernd parallele Verlauf der Zellzahlen bestärkt diese Vermutung.

Dabei lösen sich Phasen stark erhöhter Zellproliferation mit relativen Ruhephasen ab. Dementsprechend sind die Zellen dann einem erhöhten oder erniedrigten Proliferationsdruck ausgesetzt. Die beschleunigte Basalzellproliferation bringt kleinere Zellen hervor als die normal ablaufende Epidermopoese. Es wäre durchaus denkbar, daß die Zellen des ersten Mitoseschubs nach HSA mit einer beschleunigten Durchgangszeit etwa 8 - 16 Tage später an der Oberfläche erscheinen und damit die Depression im Zellflächenverlauf nach Abbildung 25 verursachen. Die Hornzellen der zweiten Mitosewelle gelangen auf Grund der inzwischen weitgehend normalisierten Transitzeit und der wieder normal dicken Hornschicht 33 bis 37 Tage nach HSA zur Oberfläche, wodurch dann die zweite Depression entsteht. In den dazwischen liegenden Phasen erscheinen Hornzellen normaler, bzw. leicht vergrößerter Fläche. Das Auftreten zweier Synthesewellen stimmt mit den von Christophers und Braun-Falco [20] am Meerschweinchen erhobenen Befunden überein.

Das Verhalten der Zellfläche bei VAS-Reizung lässt eine ähnliche Deutung zu. Nach einer Grössenzunahme während der VAS-Applikation setzt anschliessend eine deutliche Flächenabnahme ein (vgl. Abb. 31). Sie könnte durch die beschleunigte Zellproliferation analog den Vorstellungen bei Hornschichtabriss bedingt sein. Da die Mitoseaktivität nicht synchronisiert wird, bildet sich kein wellenförmiger Verlauf aus.

Die Fläche der Ekzemzellen war in der vorliegenden Untersuchung durchschnittlich kleiner als die von entsprechenden Hornzellen der gesunden Haut. Auch hier ergibt sich zwanglos eine Beziehung zwischen Zellverkleinerung und beschleunigter Epidermopoese.

Es scheint allgemein so zu sein, daß erhöhte Proliferation kleinere Zellen hervorbringt und langsames Wachstum grosse, ausgewalzte Zellen bedingt. Wir kennen Zonen schnellen

Wachstums wie zum Beispiel Kopfhaut, Unterarm und Unterschenkel mit kleinen, dicken Hornzellen und Zonen langsamen Wachstums wie Rücken, Oberarm und Oberschenkel mit grossen, platten Zellen (Plewig [49], Plewig und Marples [58]). Auch ist die Erneuerungszeit der Epidermis bei alten Menschen verlängert (Baker und Blair [1]) und diese gebremste Epidermopoese korreliert mit einer Vergrösserung der Hornzellen (Plewig [51]). Hornzellen bei Psoriasis besitzen ebenfalls eine kleinere Fläche als vergleichbare Kontrollzellen (persönliche Mitteilungen H. Goldschmidt, Philadelphia). Auch hier spielt die erhöhte Mitoserate eine entscheidende pathogenetische Rolle.

Es ist allerdings nicht bekannt, durch welchen zell-physiologischen Mechanismus eine gesteigerte Proliferation kleinere Zellen hervorruft. Die initiale Grössenzunahme der Hornzellen bei experimenteller Dermatitis kann ebenfalls nicht befriedigend erklärt werden. Bei Ekzemen konnte aber ein vergleichbarer Grössenanstieg nicht gefunden werden. Entweder bildet er sich bei ekzematischen Veränderungen nicht aus oder, was wahrscheinlicher wäre, wird er deshalb nicht registriert, weil die Patienten erst Tage oder Wochen nach dem Erscheinen der Effloreszenzen in die Klinik kommen, und dann die Phase der Zellverkleinerung schon erreicht ist.

III. Wirkung der lokalen Corticosteroidapplikation

1. Beeinflussung der Hornzellmorphologie:

Unter den pharmakodynamischen Wirkungen der Corticosteroide auf die Haut stehen nach den Arbeiten von Schaaf und Gross [62], Kalkoff und Berger [37], Fisher und Maibach [27],

Weirich u. Longauer [75,76] , Schöpf [63] und Plewig u. Kligman [56] eine Verminderung der Proliferation und Regeneration der Epidermis, bedingt durch eine DNS -Synthesehemmung, neben einer allgemeinen Bremsung der entzündlichen und immunologischen Reaktionen im Vordergrund.

In der vorliegenden Arbeit konnten darüber hinaus keine spezifischen, zellmorphologischen Veränderungen als Reaktion auf die Corticosteroidapplikation beobachtet werden. Das heißt, es fanden sich keine morphologischen Merkmale, die nur bedingt durch die Steroidtherapie auftreten. Bei pathologisch veränderten Hornzellen gelingt es aber, durch die lokale Applikation von Steroiden, eine signifikant schnellere Normalisierung herbeizuführen, als dies bei spontanem Abheilen der Erscheinungen der Fall ist. Es handelt sich dabei aber nicht um eine unmittelbare Einwirkung der Steroide auf die Hornzellen, sondern vielmehr um eine Bremsung der beteiligten entzündlichen Vorgänge und eine Hemmung der gesteigerten Basalzell-Proliferation.

Die vorangehenden Abschnitte konnten verdeutlichen, daß insbesondere die Hemmung der Mitoseaktivität einen entscheidenden Beitrag zur Wiederherstellung der normalen Verhornungsvorgänge zu leisten vermag. Die Verlangsamung der Epidermopoese kommt auch in der verminderten Anzahl der durch die Detergens-Technik gewonnenen Hornzellen zum Ausdruck. Dies konnte bei den mit Steroiden behandelten Ekzemherden, den Dermatitismodellen und bei Steroidapplikation auf gesunde Haut (siehe Abb. 39 und Text Seite 88) gezeigt werden.

Eine Auswirkung der Steroid-Therapie auf die Fläche der oberflächlichen Hornzellen wurde ebenfalls festgestellt.

Es fanden sich aber unterschiedliche Ergebnisse.

- Durch die Steroidbehandlung wurden in den experimentellen Dermatitis-Modellen die Hornzellen signifikant verkleinert. Der Effekt der entzündlichen Hautreizungen durch HSA und VAS-Applikation auf die Hornzellfläche wurde also durch die Corticosteroide verstärkt.
- Eine Analyse der mit Steroiden behandelten Ekzemzellen ergab dagegen eine mässige Vergrösserung der ursprünglich gegenüber den Kontrollwerten verkleinerten Hornzellen. Die Behandlung erzielte hier eine Rückführung der Zellflächen zur Norm.

Um eine Deutung dieser widersprüchlichen Versuchsergebnisse zu ermöglichen, wurde die Reaktion klinisch unveränderter, gesunder Haut auf die Applikation von Steroiden getestet.

Zwei freiwilligen Probanden wurde an Versuchsfeldern am oberen Rücken 0,1%ige Betamethason-Valerat-Creme unter Okklusiv-Bedingungen verabreicht. Nach 18 Tagen wurden für weitere 7 Tage die Steroide offen, zweimal täglich appliziert. Das Ergebnis ist in Abbildung 39 dargestellt. Sämtliche während der Steroidapplikation gewonnenen Hornzellen sind kleiner als die Kontrollzellen von unbehandelter Haut vor dem Versuch. Durch die offene Steroidbehandlung wird nach Absetzen des Okklusiv-Verbandes eine weitere Flächenabnahme der Corneozyten bewirkt.

Dieses Ergebnis steht in guter Übereinstimmung mit den 1950 veröffentlichten Befunden von Castor u. Baker [11], die an der Epidermis männlicher Ratten eine Verkleinerung der Zellen des Stratum germinativum nach lokaler Applikation von Corticosteroiden fanden. Auch der Hinweis von Baxter u. Stoughton [4], daß in psoriatischen Läsionen alleine durch Okklusiv-Verband ohne jeden

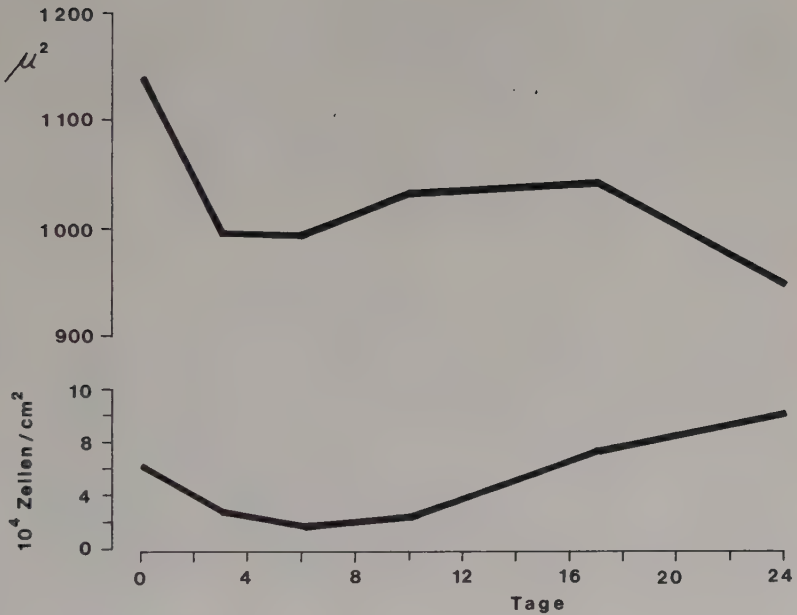


Abbildung 39:

Verlauf der Hornzellfläche und der Zellzahl pro cm² Hautfläche bei Applikation von Corticosteroiden auf gesunde Epidermis

Wirkstoff eine Verminderung der mitotischen Aktivität festzustellen war, erscheint in diesem Zusammenhang von Interesse.

Zusammenfassend erscheint es gesichert, dass Corticosteroide die Hornzellen normaler Haut und obligat-toxisch gereizter, primär aber gesunder Epidermis verkleinern. Eine genaue Ursache hierfür ist nicht bekannt.

Das gegensätzliche Verhalten der Ekzemzellen, also ihre Vergrößerung durch Steroidbehandlung, fügt sich in die oben beschriebenen Befunde ein. Dort wurde ausgeführt, daß eine beschleunigte Epidermopoese kleine Zellen bedingt, und die Bremsung des Zellumsatzes, wie hier durch die Wirkung der Steroide, grössere Zellen hervorruft.

2. Wirkungsvergleich der verwendeten Corticosteroide:

Die üblichen pharmakologischen Verfahren der Wirkungsprüfung von Steroiden beziehen sich ausschliesslich auf deren entzündungshemmenden Effekt (McKenzie [42], McKenzie u. Stoughton [43], Tronnier [69], Engel et al. [24]). In der hier vorliegenden Studie über experimentelle Dermatitis wurden die beiden verwendeten Corticosteroide aber darüber hinaus anhand ihrer Beeinflussung zellmorphologischer Parameter verglichen.

Dabei ergab sich eine Überlegenheit von Betamethason-Dipropionat gegenüber Betamethason-Valerat, sowohl in klinischer als auch in zellmorphologischer Sicht. Dies konnte an der überwiegenden Mehrzahl der untersuchten Kriterien festgestellt werden. In Tabelle 6 sind alle Untersuchungsparameter aufgeführt, und es ist ersichtlich, welches der beiden verwendeten Präparate jeweils die stärkere Wirksamkeit zeigte.

Die quantitative Analyse konnte jedoch nur den Unterschied in der Beeinflussung der Zellflächen nach HSA statistisch sichern ($p < 0.05$). Er wird deutlicher, wenn man berücksichtigt, dass Betamethason-Dipropionat nur in 0,05%iger Konzentration benutzt wurde und trotz dieser nur halb so hohen Konzentration wie Betamethason-Valerat bei gleichem Vehikel eine grössere therapeutische Wirksamkeit zeigte. Die höhere Wirksamkeit bedingt aber auch eine Zunahme der unerwünschten Wirkungen, wie bei der Induktion der Steroidakne und dem Pigmentverlust der behandelten Hautstellen zu sehen war.

Tabelle 6:

Vergleich der Wirkungsstärke von Betamethason-Dipropionat und Betamethason-Valerat anhand der klinischen und zellmorphologischen Untersuchungsparameter bei experimenteller Dermatitis. Die Zellfläche nach HSA wurde durch Betamethason-Dipropionat signifikant stärker beeinflusst. Stärkere Wirkung + , kein Unterschied in der Wirkungsstärke 0, schwächere Wirkung - .

	Betamethason-Dipropionat 0,05%	Betamethason-Valerat 0,1%
HSA: Erythem	+	-
Schuppung	+	-
Verkrustung	+	-
Pigmentverlust	0	0
Steroidakne	+	-
Kernstrukturen	+	-
Trabekelstrkt.	+	-
Zellzahl	0	0
Zellfläche	+ $p < 0.05$	-
VAS: Erythem	0	0
Schuppung	+	-
Pigmentverlust	+	-
Kernstrukturen	0	0
Trabekelstrkt.	0	0
Zellzahl	+	-
Zellfläche	0	0

3. Unerwünschte Wirkungen der Corticosteroide:

a) Steroidakne:

Nach HSA wurden durch die Applikation der Steroide binnen 8 Tagen akneartige Effloreszenzen in Form von entzündlichen Papeln, Papulo-Pusteln und später Comedonen hervorgerufen (vgl. Abb.18,19,20). Dies erschien überraschend, da nach den bisherigen Untersuchungen von Flewig u.Kligman [56] erheblich höhere Steroiddosen über einen längeren Zeitraum, meist unter Okklusivtechnik verabreicht wurden, um ähnliche Reaktionen auszulösen.

Auch bei der hier durchgeführten Steroid-Applikation auf gesunde Haut unter Okklusiv-Technik zeigte sich nach einer Woche der Beginn einer Steroidakne. Die auf-schiessenden entzündlichen Papeln entwickelten sich jedoch nicht so ausgeprägt wie nach HSA und verschwanden nach Absetzen der Steroid-Applikation wesentlich rascher.

Sicherlich bewirkte der HSA einen "Barriereverlust" und damit eine wesentlich verstärkte Penetration von Steroiden. Feldman und Maibach [26] fanden durch Messungen der Penetration von markiertem Cortisol deren Abhängigkeit von der Hornschichtdicke. Christophers [15] berichtete über eine erhebliche Epidermishyperplasie durch verabreichte Salbengrundlagen nach HSA. Ohne HSA war eine vergleichbare Wirkung nicht zu erzielen. Baker u. Kligman [2] teilen einen 50-fach erhöhten transepidermalen Wasserverlust nach HSA mit. Diese Versuche bestätigen die Vorstellung, daß nach Entfernung der Hornschicht eine erhöhte Wirksamkeit der Steroide durch bessere Penetration zu erwarten ist. Dies wird auch durch die erhobenen zytomorphologischen Befunde unterstützt. Die HWZ der parakeratotischen Zellen nach HSA wurde durch die Corticosteroidbehandlung auf 57 % verkürzt während sie nach VAS-Reizung nur auf 72 % erniedrigt war. Auch die Zellflächenverkleinerung nach HSA um 9 bis 14 % gegenüber 2 bis 3 % nach VAS-Reizung stützt die Annahme, daß die Entfernung der schützenden Hornschicht eine schnellere und stärkere Wirkung der Corticosteroide ermöglicht.

b) Pigmentverlust:

Wenn nach HSA oder VAS-Reizung die Rückbildung des Erythems eine genauere Beurteilung des Hautkolorits zulässt, so fällt eine zunehmende Abblassung durch Verlust des Melaninpigments auf. Dieser Schwund an Melanin durch die beschleunigte Epidermopoese wurde auch von Kligman et al. [40]

und Flewig [50] nach VAS-Behandlung gefunden. Flewig et al. [59] vermuteten durch die gesteigerte Proliferation eine funktionelle Störung des Melanin-Transportmechanismus von Melanozyten in Keratinozyten. Auch ein anderes intrazytoplasmatisches Verteilungsmuster könnte eine Rolle spielen. Pinkus [46] fand nach HSA Melanin in suprabasalen Zellagen. Keddie und Sandi [38] u. Goldschmidt u. Kligman [31] beschrieben in den obersten Hornzellagen Melaningranula. Bei dieser Verteilung des Melanins auf grosse Anteile der Epidermis kommt es durch die gesteigerte Epidermopoesis, bedingt durch den beschleunigten Zellersatz, zu einem relativen Melaninverlust.

Steroide greifen über diese Vorgänge hinaus hemmend ein, denn sie bewirken eine signifikant stärkere Abblassung als dies durch HSA oder VAS-Reizung alleine hervorgerufen wird. Dieser zusätzlich aufhellende Effekt der Corticosteroide kann nicht allein durch eine Vasokonstriktion erklärt werden, ("blanching"-Effekt) da die stärkere Abblassung auch nach Absetzen der Steroide, bei dann normaler Hautdurchblutung, bestehen bleibt. Der Mechanismus dieser Steroidwirkung ist ungeklärt.

Theoretisch sind drei Angriffspunkte möglich:

1. Melaninsynthese in den Melanozyten,
2. Der Transport des Melanins von Melanozyten in Keratinozyten,
3. Das Melaninverteilungsmuster innerhalb der Keratinozyten,

Einige Befunde sprechen dafür, daß durch Corticosteroide die zytoplasmatische Verteilung des Melanins in den Keratinozyten verändert wird [66].

Tabelle 7: Verzeichnis der verwendeten Materialien mit Angabe von Handelsnamen und Bezugsfirmen.

Generic Names	Handelsnamen	Bezugsfirmen
	tesa-film	Beiersdorf AG Hamburg
Vitamin A-Säure		Hoffmann-La Roche AG, Basel
Betamethason- Valerat	Celestan-V	BYK-ESSEX München
Betamethason- Dipropionat	Diprosone	BYK-ESSEX München
Triton-X 100		Serva Heidelberg
Methylenblau		Merck AG Darmstadt
Rhodamin-B		Chroma (Schmid & Co.) Stuttgart- Untertürkheim
	Selecta Falten- filter Nr. 529 1/2	Schleicher & Schüll, Dassel
	Planimeter	A. Ott, Kempten
	Projektionsmikros- kop Prado-Universal	Leitz, Wetzlar
	Mikrometer	Leitz, Wetzlar
	Mikroskop mit Projektionszusatz	Zeiss, Oberkochen

F. LITERATURVERZEICHNIS

1. BAKER H., BLAIR C.P.: Cell replacement in the human stratum corneum in old age. British J. of. Derm. 80, 367-372 (1968)
2. BAKER H., KLIGMAN A.M.: Measurement of transepidermal water loss by electrical hygrometry. Arch. Derm. 96, 441-452 (1967)
3. BAKER H., KLIGMAN A.M.: Technique for estimating turnover of human stratum corneum. Arch. Derm. 95, 408-411 (1967)
4. BAXTER D.L., STOUGHTON R.B.: Mitotic index of psoriatic lesions treated with anthralin, glucocorticosteroid and occlusion only. J. invest. Derm. 54, 410-412 (1970)
5. BEER P.: Untersuchungen über die Wirkungen der Vitamin-A-Säure. Dermatologica 124, 192-195 (März 1962)
6. BRAUN-FALCO O.: Das Wesen des parakeratotischen Verhornungsmodus aus histochemischer Sicht. Klin. Wschr. 35, 1182-1184 (1957)
7. BRAUN-FALCO O., CHRISTOPHERS E.: Psoriasiforme Epidermis-Reaktion der Meerschweinchenhaut durch örtliche Vitamin-A-Säure-Applikation. Arch. klin. exp. Derm. 234, 70-86 (1969)
8. BRAUN-FALCO O., CHRISTOPHERS E., KURBAN A.: Abnormes Verhalten der epidermalen Regeneration bei Patienten mit Psoriasis vulgaris. Arch.klin.exp. Derm. 229, 276-284 (1967)
9. BRAUN-FALCO O., THIANPRASIT M., KINT A.: Über den Einfluß einer lokalen Okklusivtherapie mit Fluorandrenolon auf die psoriatische Hautreaktion. Arch.klin.exp.Derm. 217, 30-49 (1963)
10. BRODY I.: The ultrastructure of the epidermis in psoriasis vulgaris as revealed by electron microscopy. 3. The stratum intermedium in parakeratosis without keratohyalin. J. of ultrastr. Res. 6, 341 - 353 (1962)

11. CASTOR C.W., BAKER B.L.: The local action of adrenocortical steroids on epidermis and connective tissue of the skin. *Endocrinology* 47, 234-241 (1950)
12. CHRISTOPHERS E.: The architecture of the stratum corneum after wounding. *J. invest. Derm.* 57, 241-246 (1971)
13. CHRISTOPHERS E.: Cellular architecture of the stratum corneum. *J. invest. Derm.* 56, 165-169 (1971)
14. CHRISTOPHERS E.: Correlation between column formation, thickness and rate of new cell production in guinea pig ear epidermis. *Virchow Archiv (Zellpathol.)* 10, 286-292 (1972)
15. CHRISTOPHERS E.: DNS-Synthese und Hyperplasie der Epidermis nach Hornschichtabrieb und Salben-Applikation. *Arch.klin.exp. Derm.* 233, 277-286 (1968)
16. CHRISTOPHERS E.: Die epidermale Columnärstruktur. *Z.Zellforsch.* 114, 441-450 (1971)
17. CHRISTOPHERS E.: Eine neue Methode zur Darstellung des Stratum corneum. *Arch. klin. exp. Derm* 237, 717-721 (1970)
18. CHRISTOPHERS E.: Wachstumsdynamik von Epidermis und Papillarkörper nach lokaler Applikation von Vitamin-A-Säure. Biometrische Untersuchungen am Meerschweinchenohr. *Arch.klin.exp. Derm.* 233, 99-106, (1968)
19. CHRISTOPHERS E.: Die Wanderungskinetik postmitotischer Epidermiszellen. Autoradiographische Untersuchungen. *Arch. klin. exp. Derm.* 236, 161-172 (1970)
20. CHRISTOPHERS E., BRAUN-FALCO O.: Epidermale Regeneration am Meerschweinchenohr nach Hornschichtabrieb. *Arch.klin. exp. Derm.* 231, 85-96 (1967)
21. CHRISTOPHERS E., BRAUN-FALCO O.: Stimulation der epidermalen DNS-Synthese durch Vitamin-A-Säure. *Arch. klin. exp. Derm.* 232, 427-433 ;1968)
22. CHRISTOPHERS E., KLIGMAN A.M.: Visualization of the cell layers of the stratum corneum. *J. invest. Derm.* 42, 407-409 (1964)
23. CHRISTOPHERS E., WOLFF H.H., LAURENCE E.B.: The formation of epidermal cell columns. *J.invest.Derm.* 62, 555-559 (1974)

24. ENGEL D.J.C., MARX A.F., REKKER R.F., LEENDERT van WIJK:
Topically active corticosteroids. Arch. Derm. 109,
863-865 (1974)
25. EPSTEIN W.L., MAIBACH J.J.: Cell renewal in human epi-
dermis. Arch. Derm. 92, 462-468 (1965)
26. FELDMANN R.J., MAIBACH H.I.: Regional variation in
percutaneous penetration of 14-C-cortisol in man.
J. invest. Derm. 48, 181-183 (1967)
27. FISHER L.B., MAIBACH H.I.: The effect of corticosteroids
on human epidermal mitotic activity. Arch. Derm. 103,
39-44 (1971)
28. FROST P., WEINSTEIN G.D.: Topical Vitamin A acid for
scaling dermatoses. Clin. Res. 16, 255 (1968) (National
Meeting Abstracts)
29. FROST P., van SCOTT E.J., WEINSTEIN G.D.: The ichthyosi-
form dermatoses II. Autoradiographic studies of epi-
dermal proliferation. J. invest. Derm. 47, 561-567 (1966)
30. MC GINLEY K.J., MARPLES R.R., PLEWIG G.: A method for
visualizing and quantitating the desquamation portion
of the human stratum corneum. J. invest. Derm. 53, 107-111
(1969)
31. GOLDSCHMIDT H., KLIGMAN A.M.: Exfoliative cytology of
human horny layer. Arch. Derm. 96, 572-576 (1967)
32. GOLDSCHMIDT H., THEW M.: Exfoliative cytology of psorias-
is and other common dermatoses. Arch. Derm. 106, 476-483
(1972)
33. HANUSOVA S.: Parakeratotische Lipoidgranula. Arch. klin.
exp. Derm. 214, 6-12 (1961)
34. HOJYO-TOMOKA M.T., KLIGMAN A.M.: Does cellophane tape
stripping remove the horny layer? Letters to the editor.
Arch. Derm. 106, 767-768 (1972)
35. HUNTER R., Pinkus H., STEELE L.H.: Examination of the
epidermis by the strip method. III. The number of keratin
cells in the human epidermis. J. invest. Derm. 27, 31-34,
(1956)

36. JENNY D., SCHUPPLI R.: Fortschritte in der Therapie der Ekzeme. Praxis 59, 589-592 (1970)
37. KALKOFF K.W., BERGER H.: Submikroskopische Befunde bei Psoriasis vulgaris unter Fluocinolonacetonid. Hautarzt 16, 483-489 (1965)
38. KEDDIE F., SANDI D.: Morphology of the horny cells of the superficial stratum-corneum. Cell membranes and melanin granules. J.invest.Derm. 44, 135-138 (1965)
39. KLIGMAN A.M.: The biology of the stratum corneum. The epidermis, 387-433. Eds.Montagna W., Lobitz W.C. New-York-London Academic Press 1964
40. KLIGMAN A.M., FULTON J.E., PLEWIG G.: Topical Vitamin A acid in acne vulgaris. Arch. Derm. 99, 469-476 (1969)
41. MARKS R., DAWBER R.P.R.: Skin surface biopsy: An improved technique for the examination of the horny layer. British J.of Derm. 84, 117-123 (1971)
42. McKENZIE A.W.: Percutaneous absorption of steroids. Arch.Derm. 86, 611-614 (1962)
43. McKENZIE A.W., STOUGHTON R.B.: Method for comparing percutaneous absorption of steroids. Arch.Derm. 86, 608-610 (1962)
44. ORFANOS C.E.: Feinstrukturelle Morphologie und Histo-pathologie der verhornenden Epidermis. Georg Thieme Verlag Stuttgart 1972
45. PINKUS H.: Examination of the epidermis by the strip method of removing horny layers. I.Observations on thickness of the horny layer, and on mitotic activity after stripping. J.invest.Derm. 16, 383-386 (1951)
46. PINKUS H.: Examination of the epidermis by the strip method. II.Biometric data on regeneration of the human epidermis. J.invest.Derm.19, 431-447 (1952)
47. PLEWIG G.: Akne: experimentelle Grundlagen-pathogene-tische Faktoren-Vitamin-A-Säure-Therapie. Therapeutische Umschau / Revue therapeutique 29, 597-606 (1972)

48. PLEWIG G.: Größe, Form und Anordnung verhornender Schleimhautzellen. Arch.Derm.Forsch. 242 30-42 (1971)
49. PLEWIG G.: Kopfschuppen und ihre Behandlung. Kosmetologie 3, 3-18 (8/1971)
50. PLEWIG G.: Lokalbehandlung der Chlorakne (Halowaxacne) mit Vitamin-A-Säure. Hautarzt 21, 465-470 (1970)
51. PLEWIG G.: Regional differences of cell sizes in the human stratum corneum. Part II. Effects of sex and age. J.invest.Derm. 54, 19-23 (1970)
52. PLEWIG G.: Vitamin A acid. Topical treatment in acne vulgaris. Penn. med. 72, 33-36 (1969)
53. PLEWIG G.: Zellmorphologie im Exprimat von Nasenflügel-follikeln und Comedonen. Arch. klin.exp.Derm.237,703-716 (1970)
54. PLEWIG G., BRAUN-FALCO O.: Behandlung von Comedonen bei Morbus Favre-Racouchot und Acne venenata mit Vitamin-A-Säure. Hautarzt 22, 341-345 (1971)
55. PLEWIG G., FULTON J.E.: Autoradiographische Untersuchungen an Epidermis und Adnexen nach Vitamin-A-Säure-Behandlung. Hautarzt 23, 128-136 (1972)
56. PLEWIG G., KLIGMAN A.: Induction of Acne by Topical Steroids. Arch.Derm.Forsch. 247, 29-52 (1973)
57. PLEWIG G., KLIGMAN A.M.: Zellkinetische Untersuchungen bei Kopfschuppenerkrankungen (Pityriasis simplex capillitiis). Arch. klin.exp.Derm. 236, 406-421 (1970)
58. PLEWIG G., MARPLES R.R.: Regional differences of cell size in the human stratum corneum. Part I. J. invest.Derm. 54. 13-18 (1970)
59. PLEWIG G., WOLFF H.H., BRAUN-FALCO O.: Lokalbehandlung normaler und pathologischer menschlicher Haut mit Vitamin-A-Säure. Klinische, histologische und elektronenmikroskopische Untersuchungen. Arch. klin.exp. Derm. 239,390-413 (1971)

60. ROTHBERG S., CROUNSE R.G., LEE J.L.: Glycin 14 C incorporation into the proteins of normal stratum corneum and the abnormal stratum corneum of psoriasis. J.invest.Derm. 37, 497-504 (1961)
61. SACHS L.: Statistische Auswertungsmethoden - Berlin (1968)
62. SCHAAF F., GROSS F.: Tierexperimentelle Untersuchungen über den Einfluss von Steroiden auf die Haut. Arch.klin. exp. Derm. 205, 312-320 (1957)
63. SCHÖPF E.: Nebenwirkungen externer Corticosteroidtherapie. Hautarzt 23, 295-301 (1972)
64. SCHUPPLI R.: Fortschritte in der dermatologischen Therapie. Arch.klin.exp.Derm.237,214-227 (1970)
65. SNEDECOR G.W.: Statistical Methods. Applied to Experiments in Agriculture and Biology. Iowa U.S.A. (1962)
66. SNELL R.S.: Hormonal control of pigmentation in man and other mammals. Advances in biology of skin. Vol. 8. The pigmentary system. 447-466.Eds.Montagna W., Fuman Hu Pergamon Press 1967
67. STÜTTGEN C.: Zur Lokalbehandlung von Keratosen mit Vitamin-A-Säure. Dermatologica 124, 65-80 (Feb.1962)
68. SZAKALL A.: Über den Stand der hautphysiologischen Forschung als Beitrag zu einem zielbewußten Arbeitsschutz. Arch.f.Derm.u.Syph. 194, 376-391 (1952)
69. TRONNIER H. : Über die experimentelle Prüfung von entzündungshemmenden Steroiden an der menschlichen Haut. Berufsdermatosen 8, 25-46 (1960)
70. VICTOR N.: Analyse mehrdimensionaler Kontingenztafeln. Dissertation, Mainz (1970)
71. VICTOR N.: Zur Klassifizierung mehrdimensionaler Kontingenztafeln. Biometrics 28, 427-441 (1972)
72. WEINSTEIN G.D., FROST P.: Methotrexate for Psoriasis. Arch.Derm. 103. 33-38 (1971)
73. WEINSTEIN G.D., VAN SCOTT.E.J.: Autoradiographic analysis of turnover times of normal and psoriatic epidermis. J.invest. Derm. 45, 257-262 (1965)

74. WEIRICH E.G.: Praktische Bedeutung und Wertkriterien der Corticoidexterna. Wien. med. Wschr. 116, 665-673 (1966)
75. WEIRICH E. G., LONGAUER J.: Beeinflussung der epidermalen Proliferationsaktivität durch Corticoidexterna und deren Grundlagen. Arch.Derm.Forsch. 241, 235-254 (1971)
76. WEIRICH E.G., LONGAUER J.: Über die Wirkungsprüfung von Externcorticoiden im Epidermoplasietest. Dermatologica 142, 245-262 (1971)
77. WILLIAMS M.G., HUNTER R.: Studies on epidermal regeneration by means of the strip method. J.invest.Derm. 29, 407-413 (1957)
78. WILLIAMSON P., KLIGMAN A.M.: A new method for the quantitative investigation of cutaneous bacteria. J.invest.Derm. 45, 498-503 (1965)
79. WOLF J.: Die innere Struktur der Zellen des Stratum desquamans der menschlichen Epidermis. Zeitschr.f.mikr.-anatom.Forschung 46, 170-202 (1939)
80. WOLF J.: Das Oberflächenrelief der menschlichen Haut. Zeitschr.f.mikr.-anatom.Forschung 47, 351-400 (1940)
81. WOLFF H.H., CHRISTOPHERS E., BRAUN-FALCO O.: Beeinflussung der epidermalen Ausdifferenzierung durch Vitamin-A-Säure. Eine elektronenmikroskopische Untersuchung. Arch.klin.exp. Derm.237, 774-795 (1970)

Herrn Professor Dr. O. Braun-Falco möchte ich danken, da er mir die Möglichkeit gab, meine Arbeit an seiner Klinik durchzuführen.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Priv. Doz. Dr. G. Flewig, der meine Aufmerksamkeit auf die noch wenig untersuchte Morphologie der Hornzellen lenkte und mir mit seinem Rat stets freundlich zur Seite stand.

Nicht zuletzt bedanke ich mich bei Frau E. Billinger für die Mühe und Sorgfalt, die sie zum Schreiben der Arbeit aufwandte.

LEBENS LAUF:

Am 14. Mai 1947 wurde ich als zweites von drei Kindern des Fachlehrers Erhard Hölzle und seiner Ehefrau Margarete in Landshut geboren.

In Landshut verbrachte ich meine jüngste Kindheit bis meine Eltern 1951 nach München zogen. Hier besuchte ich von 1953 bis 1957 die Volksschule und trat dann in die höhere Schule ein. 1966 legte ich am mathematisch-naturwissenschaftlichen Rupprecht-Gymnasium die Reifeprüfung ab. Anschließend wurde ich zur Ableistung des 18-monatigen Grundwehrdienstes zum Geb. Jg. Btl. 222 nach Mittenwald eingezogen. Dort war ich hauptsächlich im Truppensanitätsdienst tätig.

Während des Militärdienstes entschloß ich mich zum Studium der Medizin, das ich 1968 begann und im Feb. 1975 mit dem Staatsexamen abschloss.

Mit der Anfertigung der vorliegenden Dissertation war ich, mit Unterbrechungen durch Studium und Examen, von Sommer 1972 bis zum Frühjahr 1975 beschäftigt.

